

Akadémiai doktori értekezés

A perinatális adaptációt befolyásoló genetikai polymorphismusok

(A gyulladás intenzitását, a vazoregulációt és az endokrin választ érintő
génpolymorphismusok összefüggése a kissúlyú koraszülöttek szövődményeivel)

Dr. Vásárhelyi Barna

2007

Budapest

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés	
1.1. Perinatális szövődmények – öröklött hajlam?	5
1.2. Genetikai polymorphismusok: definíciók	8
1.3. Vizsgált perinatális szövődmények	
1.3.1 Perinatális adaptációs zavarok	11
1.3.1.1. Idiopathiás respirációs distressz szindróma	11
1.3.1.2. Keringési elégtelenség	12
1.3.1.3. Ductus arteriosus persistens	12
1.3.1.4. Kamraüri vérzés	13
1.3.2 Sepsis	13
1.3.3. Akut veseelégtelenség	14
1.3.4. Enterocolitis necroticans	14
1.3.5. Bronchopulmonaris dysplasia	15
1.3.6. Retinopathia prematurorum	15
1.4. Közös elemek a perinatális szövődmények pathomechanizmusában	
1.4.1. A perinatális szövődmények legfontosabb kockázati tényezője: a koraszülés	16
1.4.1.1. Chorioamnionitis	16
1.4.1.2. Magzati gyulladásos válasz szindróma (FIRS) és koraszülés	17
1.4.2. Közös elem a perinatális szövődmények pathomechanizmusában: a gyulladás	18
1.4.2.1. A gyulladás mediátorai: a citokinek	18
1.4.2.1.1. Döntően proinflammatoricus hatású citokinek	
1.4.2.1.1.1. Tumor necrosis faktor- α	20
1.4.2.1.1.2. Interleukin-1	21
1.4.2.1.1.3. Interleukin-12	22
1.4.2.1.1.4. Interferon-gamma	22
1.4.2.1.1.5. Interleukin-18	23
1.4.2.1.2. Döntően antiinflammatoricus hatású citokinek	
1.4.2.1.2.1. Interleukin-4 és receptora	24
1.4.2.1.2.2. Interleukin-6	24
1.4.2.1.2.3. Interleukin-10	25
1.4.2.2. A gyulladás elemei: adhézións molekulák. A selectinek	26
1.4.2.3. Természetes immunválasz receptorai: a CD14, a toll-like receptor 4 és a nukleotid kötő oligomerizációs domén (NOD2)	28
1.4.3. Közös elem a perinatális szövődmények pathomechanizmusában: a vazoreguláció zavara. A renin – angiotenzin – rendszer	29
1.4.3.1. A renin – angiotenzin – rendszer főbb elemei	30
1.4.4. Közös elem a perinatális szövődmények pathomechanizmusában: megváltozott endokrin környezet. A növekedési faktorok jelentősége.	31
1.4.4.1. Vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF)	32
1.4.4.2. Ösztrogén és receptorai	33
1.4.4.3. Insulinszerű növekedési faktor és receptora	33
1.4.5. Sejtvédelem: a 70 kD-s hő sokk fehérje	34

2. Célkitűzések	38
3. Betegek és módszerek	
3.1. Betegek	
3.1.1. Kissúlyú koraszülöttek	39
3.1.2. Retinopathiás koraszülöttek	41
3.1.3. Egészséges újszülöttek	42
3.2. Módszerek	
3.2.1. Genotipizálás	42
3.2.2. Statisztikai módszerek	48
4. Eredmények és megbeszélésük	
4.1. Közvetlen kapcsolat a perinatális szövődmény és a genotípus között	
4.1.1. Perinatális adaptációs zavarok	
4.1.1.1. Eredmények	49
4.1.1.2. Megbeszélés	51
4.1.2. Sepsis	
4.1.2.1. Eredmények	55
4.1.2.2. Megbeszélés	55
4.1.3. Akut veseelégtelenség	
4.1.3.1. Eredmények	57
4.1.3.2. Megbeszélés	59
4.1.4. Enterocolitis necrotisans	
4.1.4.1. Eredmények	63
4.1.4.2. Megbeszélés	65
4.1.5. Bronchopulmonaris dysplasia	
4.1.5.1. Eredmények	67
4.1.5.2. Megbeszélés	69
4.1.6. Koraszülöttek retinopathiaja	
4.1.6.1. Eredmények	72
4.1.6.2. Megbeszélés	73
4.1.7. Genetikai polymorphismusok és koraszülöttség	
4.1.7.1. Eredmények	76
4.1.7.2. Megbeszélés	77
4.2. Genetikai polymorphismusok és perinatális szövődmények: komplex összefüggések	80
4.3 Vizsgálataink korlátai	82
5 Az eredmények potenciális hasznosítása: célpont azonosítás és predikció	83
6 A genetikai polymorphismus-mintázat prediktív értéke	83
6.1. Random forest technika	84
6.2. Elemzéshez használt adatok	85
6.3. Eredmények	87
6.4. Megbeszélés	94
7. Távlatok: koraszülöttek genotípusa és felnőttkori morbiditás?	96
8. Tézisek. A kutatási eredmények összefoglalása	98
Köszönetnyilvánítás	99
Irodalomjegyzék	101
Az értekezés alapját képező közlemények	113
Saját közlemények listája	116

Rövidítések jegyzéke

ACE	angiotenzin konvertáz enzim
Ang2	angiotenzin II
ARF	angiotenzin II 1-es típusú receptor
AT1R	angiotenzin II 1-es típusú receptor
BPD	Bronchopulmaris dysplasia
CA	chorioamnionitis
CARD	caspase recruitment domain
DIC	disszeminált intravasculáris coagulatio
eNOS	endothelialis NO-szintáz
E2	ösztrogén
ER α	ösztrogén receptor alfa
FIRS	magzati gyulladásos válasz szindróma (Fetal Inflammatory Response Syndrome)
GFR	glomeruláris filtrációs ráta
GM	germinális matrix
HSP	hő sokk fehérje
I / D	insertio / deletio
IFN	Interferon
IGF-1 és IGF1-R	inzulinszerű növekedési faktor 1 (insulin-like growth factor I) és receptora
IL	Interleukin
IRDS	idiopathiás respirációs distress szindróma
IS	fontossági pontérték (importance score)
IVH	kamrai vérzés (intraventricularis haemorrhagia)
LPS	lipopoliszaccharid
MAP	átlagos artériás vérnyomás (mean arterial pressure)
MMP	matrix metalloproteáz
NEC	enterocolitis necroticans
NF κ B	nukleáris faktor kappa-béta
NO	nitrogén monoxid
NOD	nukleotid kötő oligomerizációs domén
OR [95%CI]	esélyhányados (95% megbízhatósági tartomány)
PCR	polimeráz láncreakció
PDA	nyitott Botallo-vezeték (patent ductus arteriosus)
PG	prostaglandin
PKU	fenilketonuria
PVL	periventricularis leukomalacia
RAS	renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer
RFT	random forest technika
ROP	retinopathia prematorum
SNP	pontmutáció (Single Nucleotide Polymorphism)
TLR	Toll-like receptor
TNF	tumor necrosis factor
VEGF	vasculáris endothelialis növekedési faktor (vascular endothelial growth factor)

1. Bevezetés

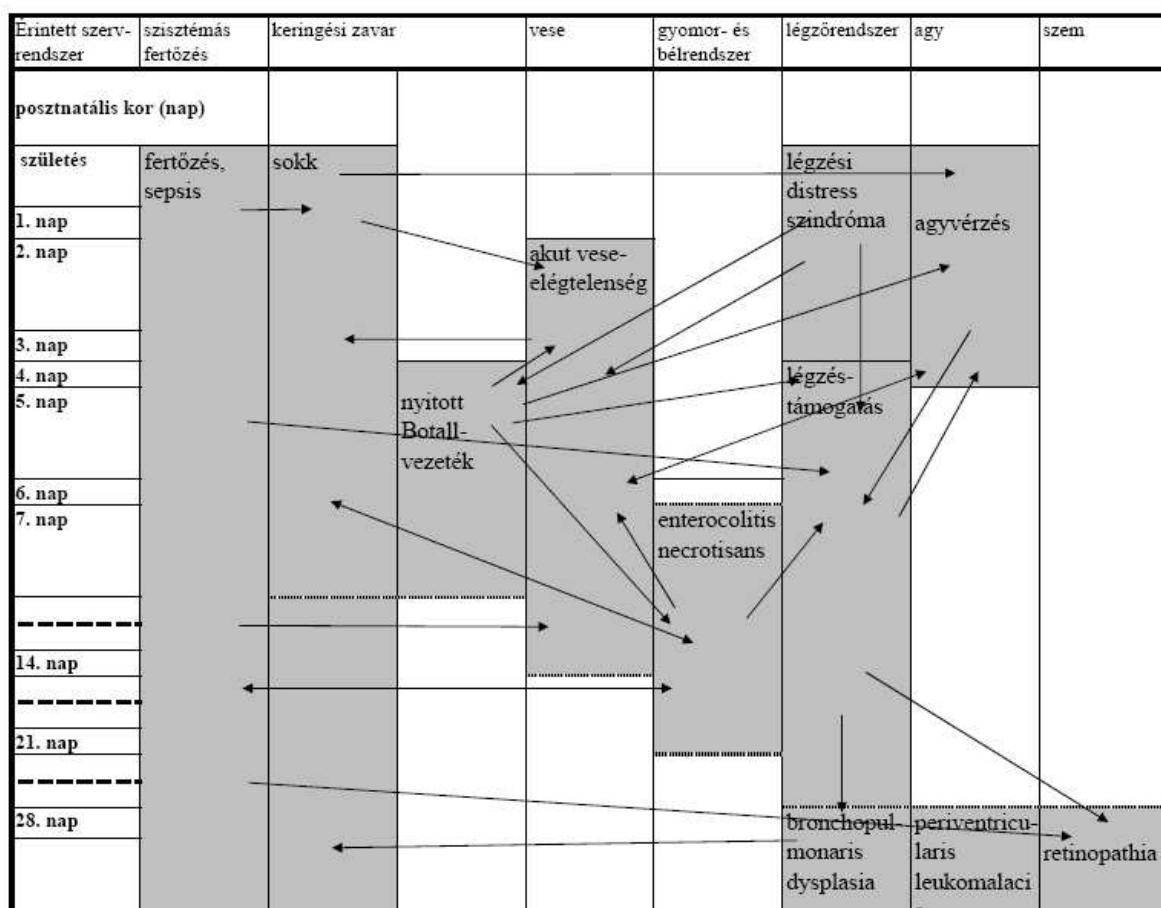
1.1 Perinatális szövődmények – öröklött hajlam?

Az élet során több olyan esemény következik be, ami alapvetően meghatározza az ember további sorsát, boldogulását. Amikor az élet leginkább stresszel járó szituációiról van szó, a legtöbbször a felnőtté válásra jellemző legfontosabb szakaszok – pályaválasztás, munkahelykeresés, családalapítás, karrierépítés – során felmerülő konfliktusok, később az öregedéssel jelentkező problémák jutnak az emberek eszébe. Bármilyen demokratikus legyen egy társadalom, ezek a problémák vérmérséklettől, életkortól, gazdasági helyzettől, nemtől függően különböznek az egyes emberek között. Emiatt a megoldások is különböznek.

Van viszont egy olyan feladat, amelyet mindenkinek meg kell oldania. Késlekedés nélkül. Magára utalva. Tapasztalatlanul és előzetes gyakorlatok nélkül, de lényegében ugyanolyan módon. Úgy, hogy a siker – vagy az esetleges kudarc, vagy fél-siker – alapvetően meghatározza a későbbi pályafutást. Ez a feladat a perinatális adaptáció. Az a folyamat, aminek az eredményeként a megszületést követően néhány órán-napon belül alkalmazkodik az újszülött az extrauterin körülményekhez. Azaz megtanulja, hogy saját homeosztázisának fenntartásáért, a táplálék megszerzéséért, az oxigénért csakúgy, mint a biztonságos keringés fenntartásáért, egyes-egyedül ő a felelős. A perinatális adaptáció óriási stresszt jelent minden újszülött számára. Nem véletlen, hogy mintegy 40 hétig készül erre a nagy eseményre: ekkorra lesz elég érett idegrendszere, immunrendszere, hormonális háztartása, egész szervezete arra, hogy minden gond nélkül megküzdjön a perinatális adaptáció kihívásaival.

Az idő előtt született, különösen a nagyon kicsi, 1500 grammal vagy annál kisebb súlyú koraszülöttnél nem ez a helyzet. Szervezete nem készült fel az extrauterin életre, a megszületést követően ezért gyakorlatilag az összes szerv és szervrendszer működésében zavar jelentkezhet. A tüdőben a felületaktív surfactant hiánya respirációs distress (IRDS) kialakulásához vezet. A keringés nem tudja kielégíteni a megváltozott igényeket: gyakori a szívelégtelenség/shock, a szervek vérellátási zavara – ami fokozza az akut veseelégtelenség (ARF), és az újszülöttkori bélgyulladás (enterocolitis necrotisans, NEC) kockázatát. Nem záródik időben a Botallo-vezeték (PDA), ami tovább terheli a keringést, többletmunkát kívánva a szívtől. Az éretlen vazoreguláció miatt nagy az újszülöttkori kamrai vérzés (IVH) veszélye is. Igen gyakori a lokális és a szisztémás infectio (sepsis). Ez közvetlenül, illetve az ezzel szemben fellépő gyulladásos reakció révén közvetve is károsítja a parenchimás szerveket.

A koraszülöttség nemcsak az első életnapok történéseit határozza meg: a subacut szövődmények, így a krónikus tüdőgyulladás (BPD), a periventricularis leukomalacia (PVL), vagy a koraszülöttkori retinopathia (ROP) kockázata is nagyon szorosan összefügg az éretlenséggel. A koraszülötteket érintő legfontosabb perinatális szövődmények időbeli sorrendjét és egymásra hatását mutatja az 1. ábra.



1. ábra A perinatális szövődmények kialakulásának időbeli sorrendje, a közöttük levő kapcsolatok vázlatos bemutatása.

A fentiek alapján nem meglepő, hogy döntő részben a koraszülöttek a felelősek a perinatális morbiditásért és mortalitásért Magyarországon csakúgy, mint a fejlett ipari országokban.

Bár a veszélyt a többi szövődmény jelenléte is befolyásolja (azaz a szövődmények szekvenciálisan lépnek fel), a perinatális szövődmények szempontjából az éretlenség a meghatározó. Az egyes szövődmények gyakoriságát az egyes magyar koraszülött csoportokban az 1. táblázat összegzi.

születési súly (gramm)*		<750	750 ≤ - <1000	1000 ≤ - <1250	1250 ≤ - <1500	1500 ≤ - <1750	1750 ≤ - <2000	2000 ≤
összes eset (2004-2005)		446	626	454	861	961	1497	6552
légzési distress (%)	van	83,0	80,7	60,5	42,5	21,8	14,7	6,3
	nincs	17,0	19,3	39,5	57,5	78,2	85,3	93,7
Sepsis	van	7,7	7,2	7,1	4,8	2,3	2,4	3,1
	nincs	79,9	85,7	86,3	91,0	94,6	95,6	94,7
	n.a.	12,4	7,1	6,6	4,2	3,1	2,0	2,2
perinatális shock	van	28,2	16,4	6,8	6,4	4,8	2,3	3,2
	nincs	66,9	80,5	90,1	92,7	93,5	96,2	95,9
	n.a.	5,0	3,1	3,1	0,9	1,7	1,5	1,0
nyitott Botallo- vezeték	van	28,7	26,8	22,5	12,4	7,0	4,3	4,5
	nincs	61,4	66,6	73,8	84,0	89,4	93,5	93,1
	n.a.	9,9	6,5	3,7	3,6	3,6	2,3	2,4
kamrai vérvérzés	van	34,5	20,1	10,2	5,1	2,3	1,3	0,5
	nincs	45,4	69,2	78,9	83,2	82,8	84,6	77,4
	n.a.	20,1	10,7	10,9	11,6	14,9	14,2	22,1
enterocolitis necrotisans	van	12,3	13,3	9,9	5,6	2,1	1,5	0,6
	nincs	80,7	83,6	88,5	93,4	96,6	97,7	98,6
	n.a.	7,0	3,1	1,5	1,0	1,4	0,8	0,8
broncho- pulmonaris dysplasia	van	29,4	39,9	18,1	8,4	2,6	1,1	0,8
	nincs	41,7	39,2	64,8	78,0	86,3	91,6	93,6
	n.a.	28,9	20,9	17,2	13,6	11,1	7,3	5,7
periventricularis leukomalacia	van	4,7	7,4	3,5	4,7	3,1	1,6	1,2
	nincs	73,3	79,4	83,7	82,9	81,3	83,8	76,9
	n.a.	22,0	13,2	12,8	12,5	15,5	14,5	21,8

n.a. nincs adat

* konvenció szerint a születési súly, nem pedig születési tömeg kifejezést használok

1. táblázat Perinatális szövődmények a terhességi kor függvényében 2004-2005-ben Magyarországon. (A Gyermekgyógyászati Szakmai Kollégium szívességéből)

A perinatális adaptáció sikerét és a szövődmények kockázatát terápiásan befolyásolni lehet. Az ellátás fejlődésének köszönhetően egyre éretlenebb koraszülöttek maradnak életben, sőt, egyre nagyobb hányaduk időre született kortársaihoz hasonló ütemben fejlődhet. (Igaz, a

koraszülöttség önmagában kockázati tényező az időskori krónikus betegségek szempontjából. Ezt leszámítva azonban gyakorlatilag teljesen tünetmentesen és egészségesen érik meg a felnőttkort.)

Az általános klinikai tapasztalat (az 1. táblázatban bemutatott adatokkal együtt) azonban azt mutatja, hogy még a legéretlenebb kohorszban sem következik be feltétlenül mindenkinél minden szövődmény. Ez felveti annak a lehetőségét, hogy a kockázatot a klinikai paraméterek, ápolási jellemzők mellett az egyéni, öröklött hajlam befolyásolhatja.

Az utóbbi másfél évtized során számos betegség kapcsán kimutatták, hogy az öröklött kockázat a genetikai polymorphismusok hordozásával összefügghet. Kutatásaink során arra a kérdésre kerestünk – és részben kaptunk – választ, hogy a perinatális szövődmények veszélye milyen mértékben függ össze egyes genetikai polymorphismusok jelenlétével az adott koraszülöttnél.

1.2. Genetikai polymorphismusok: definíciók

A genetikai polymorphismusok olyan genetikai variánsok, melyek előfordulási gyakorisága populációs szinten meghaladja az 1 százalékot.

A polymorphismusok több típusát különböztetjük meg. A leggyakoribb a mintegy 1000 bázisonként előforduló – és a genomban több milliónyira becsült – pontmutáció, amikor csak egy nukleotid bázist érint az eltérés. (Angol rövidítése, az általam is használt SNP (single nucleotide polymorphism) is ennek felel meg.) Az SNP-k esetében az adott génszakasz hossza nem változik, viszont az emberek többségénél jelen lévő egyik nukleotid bázis egy másikra cserélődik. Értekezésemben az SNP-ket az alábbi módon jelölöm:

$$\underline{\text{gén neve}}[A]^{\text{szám}}[B],$$

ahol [A] az egészséges populációban az emberek többségénél, a [B] pedig az emberek kisebb hányadánál lévő variáns esetében jelen lévő bázist jelzi (A = adenin, T = timin, G = guanin, C = citozin), míg a szám az adott gén start kodonjához viszonyított helyre utal. (Ha a start kodon előtt, a promoter szakaszban, akkor negatív, míg, ha a kodon után, akkor pozitív szám.) Van, amikor konvencionálisan nem a nukleotidcserét, hanem az ennek eredményeként bekövetkező aminosav-cserét jelölik (pl. selectinek esetében), vagy az SNP kimutatására használt restrikciós enzim alapján nevezik el allélokat (pl. ösztrogén receptor esetében); az értekezésben ezekre így utalok.

A genomban egyéb variánsok is jelen vannak: ilyenek a hosszabb génszakasz beékelődésével / kiesésével járó insertios / deletios (I/D) polymorphismusok; valamint a kisebb (akár 1-2 nukleotid hosszúságú) génszakaszok többszöröződése (ún. repeat-ek). Ezek gyakorisága az SNP-khez képest jóval kisebb.

A nemi kromoszómákon lévő géneket leszámítva minden testi sejt minden génből két kópiát tartalmaz. Ha a vizsgált polymorphismus egyik génen sem mutatható ki, akkor homozigóta vad (VV), ha csak az egyik génen detektálható, akkor heterozigóta (VM), ha mind a két génen, akkor homozigóta mutáns (MM) genotípusról beszélünk. Az allélfrekvencia megmutatja, hogy az összes (testi kromoszómán elhelyezkedő, testi sejtől vizsgált) gén hányad része tartalmaz M allélt. Értéke 0 (egy sem) és 1 (száz százalék) között változik.

Az, hogy egy adott populációban mekkora a VV, VM és MM genotípusú egyének aránya, nem változik véletlenszerűen akkor, ha az egyes genotípusok esetében nincs szelekciós előny – ezt a törvényszerűséget a Hardy-Weinberg szabály írja le:

Legyen egy gén két allélje „V” és „M”; az allélok gyakorisága az első nemzedékben „p” és „q”. Természetesen $p + q = 1$.

A következő nemzedékben (mivel az ivarsejtek csak az egyik allélt tartalmazzák és azonos valószínűséggel kombinálódnak) az egyes genotípusok gyakorisága:

„VV”: $p * p = p^2$, „VM”: $2 p * q = 2 pq$, „MM”: $q * q = q^2$.

Természetesen ekkor is $p^2 + 2 pq + q^2 = 1$

Az allélok alapján számított, valamint a vizsgálat során mért genotípus frekvenciák X^2 próbával összehasonlíthatók. Szignifikáns különbség esetén nem teljesül a Hardy-Weinberg szabály.

Amennyiben a vizsgált populációban genotípus az allélfrekvenciák alapján számítottól eltérő módon alul-, vagy felülreprezentált, azaz nem teljesül a Hardy-Weinberg kritérium, arra utalhat, hogy (a) az egyik genotípus szelekciós előnyt, vagy hátrányt jelent a többivel szemben – pl. hajlamosít egy adott betegségre, vagy fokozza a halálozást; (b) nem véletlenszerűen történt a résztvevők beválogatása, közöttük pl. rokoni kapcsolat áll fenn. (Amennyiben a Hardy-Weinberg kritérium a kontroll (azaz egészségesnek tartott) populáció esetében nem teljesül, az adott genotípus vonatkozásában újabb referencia-csoportot kell kialakítani.) A Hardy-Weinberg kritérium alapvetően fontos a populáció-genetikai vizsgálatok eredményeinek értékelésekor. (Érdekes módon korábban végzett átfogó elemzéseink azt mutatták, hogy még a vezető folyóiratok esetében sem gondol sok szerző erre [1-6].)

A génpolymorphismusok a genom fehérjét kódoló és nem kódoló régiókban is elhelyezkedhetnek. Előbbiek esetében jelenlétük a tripletek megváltozása révén aminosav-cserével, az aminosav-szekvencia változása eredményeként a fehérje harmadlagos térszerkezetének megváltozásával, végül pedig a fehérje működésének a megváltozásával járhat. Figyelembe véve azonban, hogy a genom 95%-a nem kódol fehérjét – és ezért a polymorphismusok túlnyomó többsége nem kódoló részen helyezkedik el – nem meglepő, hogy a polymorphismusok többsége nem vezet közvetlenül a fehérjeszerkezet megváltozásához. Tehát vagy egyáltalán nincs funkcionális hatásuk, vagy pedig hatásuk közvetve, a génexpresszió szabályozásán keresztül jelenik meg. Utóbbi esetben a polymorphismus egy, a génműködés szabályozásában játszó régiót érint, ahova pl. a sejtmagban a transzkripciós faktorok kötnek/kötnének. Ezen túlmenően lehet, hogy a polymorphismusok jelenléte miatt megváltozik a DNS harmadlagos térszerkezete, ami szintén befolyásolhatja a gének átírását és szabályozását.

A polymorphismusok hatását közvetlenül csak nagyon kevés esetben igazolták. A vizsgálatok túlnyomó hányada leíró jellegű. Ezért többnyire hipotetikus, hogy egy polymorphismus egy betegséggel valóban ok-okozati kapcsolatban áll-e. Munkacsoportunk célkitűzése is az volt, hogy a polymorphismus-hordozás és a perinatális szövődmények közötti összefüggést vizsgálja – az esetleges összefüggés hátterében lévő kapcsolat mibenlétét nem kutattuk.

1.3. Vizsgált perinatális szövődmények

A koraszülötteket fenyegető szövődmények bemutatása, a pathomechanizmus, terápia és a kockázati tényezők alapos jellemzése a doktori értekezés kereteit meghaladja. Az erre vonatkozó irodalom a neonatológiai és gyermekgyógyász tankönyvekben rendelkezésre áll. Az alábbiakban ezek alapján [7,8] csak azokat a kórképeket ismertetem vázlatosan, melyek gyakoriságuk és súlyosságuk miatt különösen fontosak a perinatológiai gyakorlat szempontjából és amelyekkel a genotípus összefüggését vizsgáltuk.

1.3.1 Perinatális adaptációs zavarok

Az éretlen szervezet nehezen alkalmazkodik a külvilág gyors ütemű változásaihoz, ezért a perinatális adaptációs zavarok sokszor egyszerre, egymással szorosan összefüggve jelentkeznek. Munkánk során négy olyan akut perinatális szövődmény genotípussal való kapcsolatát elemeztük, melyek légzési és keringési elégtelenséget okozva alapvetően meghatározzák a későbbi szövődmények kockázatát.

1.3.1.1. Idiopathiás respirációs distress szindróma

Az IRDS a koraszülötteknél a felületaktív surfactant hiánya miatt az élet első 6 – 12. órájában jelentkező légzési nehézség. (A surfactantot termelő II. típusú pneumociták a 28. terhességi hét előtt csak kis számban vannak jelen). A surfactant a légutakba kerülve csökkenti a felületi feszültséget és fiziológiás légúti nyomásviszonyok mellett is fenntartja az alveolusok expanzióját. Surfactant hiányában a kis légutak összeesnek. Idővel a légutak az exsudatív fehérjedús anyag és a progresszív sejtkárosodás miatt képződő epithelialis sejttörmelék miatt eltömeszelődnek, ez a teljes tüdőkapacitást közvetlenül csökkenti.

A rövid- és hosszútávú túlélési esélyek IRDS-ben az exogén surfactant-adás bevezetésének, valamint a terápia fejlődésének köszönhetően lényegesen javultak. Az igen kissúlyú koraszülötteknél az IRDS után megjelenő egyéb szövődmények (BPD, NEC, IVH) határozzák meg a prognózist.

1.3.1.2. Keringési elégtelenség (shock)

Az újszülött szíve lényegesen kisebb, kontraktilitása és compliance-e csökkent, adrenerg innervációja éretlen, verőtérfogata jelentősen kisebb, míg a perctérfogat jelentősen nagyobb a felnőttekhez viszonyítva. Koraszülöttekben még markánsabbak a különbségek, ezért kicsi a szív tartalék kapacitása, könnyen dekompenzálódik.

Koraszülötteknél a szívteljesítményt meghatározó paraméterek esetében beszűkült a kompenzáció lehetősége: (a) a preload súlyos vérzés esetén, disztribúciós shockban, vagy pozitív nyomású gépi lélegeztetés mellett csökkenhet; (b) a szívizomzat kontraktilitása rossz: a vénás visszaáramlás növekedésével már nem tud lépést tartani a kamrai kontrakció. A szívizom kontraktilitás *per se* csökkenhet hypoxiás stressz, fertőzés, valamint a koraszülött éretlensége miatt is; (c) az afterload nőhet, amiben a perinatális stressz, a szisztémás resistantia emelkedése és iatrogén ok játszhat szerepet. Keringési elégtelenséghez vezethet az intrauterin shuntök (foramen ovale, PDA) nyitva maradása is.

A hipoperfúzió miatt a szervek tápanyag- és oxigénellátása romlik, ami funkciózavarhoz, a szervek károsodásához vezethet. A shock fontos kockázati tényező az ARF, NEC, IVH szempontjából.

1.3.1.3. Ductus arteriosus persistens

A megszületés után a Botallo-vezeték záródik, aminek alapvető hemodinamikai következményei vannak. A két vérkör elkülönülése révén létrejön az önálló pulmonalis és szisztémás keringés. Ha a Botallo vezeték nem záródik, akkor rajta keresztül bal – jobb shunt jön létre, amely terheli a tüdőkeringést. A Botallo vezeték záródásának a két szakasza a funkcionális záródás és az anatómiai remodelling. A funkcionális záródásban szerepet játszik a gyorsan emelkedő arteriális oxigéntenzió, a lumenben a vérnyomás csökkenése, a keringő PGE₂ szintjének és receptorainak csökkenése. Koraszülöttekben a Botallo vezeték záródás késlekedésének a hátterében több tényező áll. A ductus PGE₂ és NO iránti érzékenysége nagy; illetve a ductus fal intrinzik tónusa kicsi. Emellett a sokszor nagyon alacsony vérnyomás szintén szerepet játszhat a záródás késésében. Ezt támasztja alá az a klinikai tapasztalat, miszerint surfactant adása után a pulmonáris érellenállás hirtelen csökken és emellett gyakrabban következik be a Botallo-vezeték nyitva maradása, vagy újbóli megnyílása.

A PDA patofiziológiai hatásai a bal-jobb shunt mértékétől, illetve az erre adott cardialis és pulmonaris választól függenek. PDA miatt a szív igénybevétele fokozott. Nő a balkamra-

elégtelenség, a shock kockázata – amely minden életfontosságú szerv (agy, mesenterium, vese) hypoperfúziójához vezet, emeli az IVH, NEC, ARF veszélyét. A PDA kissúlyú koraszülötteknél a BPD veszélyét is fokozza.

1.3.1.4. Kamraűri vérzés

Koraszülötteknél a kamraűri vérzés (IVH) a periventricularis subependimalis germinalis matrix (GM) ereiből származik; innen tör be a vér a kamrarendszerbe. Az IVH az érintett gyermekek felénél az élet első 6-12 órájára, 75%-ánál a második napra megjelenik. A GM erei igen sérülékenyek, ráadásul a koraszülötteknél az agyi keringés autoregulációja is éretlen, ezért a cerebrális véráramlás ingadozása is fontos szerepet játszik az IVH kialakulásában. Az IVH kockázatát tovább fokozza, hogy a vénás nyomás változásai (pl. lélegeztetés során) közvetlenül áttevődnek a GM ereire.

IVH-ban a GM endimáján keresztül vér kerül az agykamrákba. Az esetek 80%-ában a vér az egész kamrarendszerben eloszlik. A III-IV.stádiumú IVH szisztémás keringési elégtelenséget okozhat. Hosszú távon súlyos idegrendszeri szövődményekkel járhat.

A periventricularis leukomalácia (PVL) nagyon gyakran IVH-n átesett koraszülöttnél fordul elő, bár közvetlen ok-okozati kapcsolat a két szövődmény között nincs. A PVL kiemelkedő jelentőségű a koraszülötteket hosszú távon sújtó neurológiai szövődmények közül. Ennek a szövődménynek a kapcsolatát a genetikai polymorphismusokkal nem vizsgáltuk, mivel betegeink esetében incidenciája nagyon alacsony volt (igazolt PVL-ben összesen 4 gyermek szenvedett).

1.3.2. Sepsis

A szisztémás tünetekkel és bacteriaemiával járó sepsis kialakulásának időpontja alapján megkülönböztetnek korai (az élet első hete során), valamint késői (az ezt követő időszakban fellépő) újszülöttkori sepsist. A kissúlyú koraszülötteknél igen nagy a nosocomiális sepsis kockázata is. A baktériumok hatására generalizált gyulladásos reakció indul meg. Ennek részeként sepsisben nagymértékben szabadulnak fel citokinek: szintjük diagnosztikus értékű és segíthetnek a szövődmények kockázatának becslésében [9],

Sepsissel összefüggésben légzési és keringési elégtelenség, anyagcserezavarok, májkárosodás, ARF következhetnek be. A generalizált vérzéshez vezető disszeminált intravascularis koaguláció (DIC) szintén lehet sepsis következménye. Ezek egyszerre is jelen lehetnek – ekkor többszervi elégtelenségről van szó.

1.3.3. Akut veseelégtelenség (ARF)

A magzatban a glomeruláris filtrációs ráta (GFR) alacsony. Ez annak az eredménye, hogy az alacsony átlagos artériás vérnyomás (MAP) miatt aránylag kicsi a renális vérátáramlás. Emellett a renális érellenállás igen magas, a glomeruláris filtrációs felület pedig kicsi. A terhesség során a nephrogenesis egészen a 36. terhességi hétig tart, miközben a GFR lassan emelkedik. A megszületést követően a GFR gyors ütemben nő az artériás vérnyomás és a glomeruláris nyomás emelkedése, valamint az renális érellenállás csökkenése miatt, miközben az intrarenális vérellátás átrendeződik a superficialis nefronok irányába. A glomeruláris filtrációs felszín is nő, azonban az újszülöttnél a GFR továbbra is alacsony (nemcsak abszolút értékben, de testfelszínre vonatkoztatva is). Ez magyarázza azt, hogy a perinatális időszakban miért annyira érzékeny a noxákra a renális (glomeruláris) funkció.

Az effektív filtrációs nyomást az intrarenális vazokonstriktív és vazodilatátor erők egyensúlya biztosítja. A vazokonstriktó elsősorban angiotenzin II (AII) dependens, illetve endotelin-függő, a vazodilatációban a pitvari nátriuretikus peptidnek van szerepe. (Ezek szintjét az alkalmazott intenzív terápia, pl. katekolamin-adás nagymértékben befolyásolhatja [10,11].) Az újszülötteknél a vese véráramlás fenntartásában szerepet játszanak még egyéb vazoaktív anyagok.

Koraszülötteknél a veseelégtelenség kialakulásának elsősorban prerenális okai vannak (85%) [12]. Az ARF az esetek túlnyomó többségében a renális perfusio csökkenésének az eredménye, háttérben szerepet játszhat minden a renális perfusiot csökkentő betegség, vagy másodlagosan okoz vazoregulációs zavart. Ha oka időben megszűnik, az esetek túlnyomó többségében reverzibilis. Perzisztáló hipoperfúzió esetén súlyos urémia következik be.

1.3.4. Enterocolitis necroticans (NEC)

Koraszülötteknél a nem megfelelően innervált, éretlen, viszonylag permeabilis epithelialis barrier különösen érzékeny a bakteriális kolonizációra és a patogén kórokozók számának növekedésére [13].

A betegség kialakulását elősegíti, hogy az éretlen immunrendszer a proinflammatoricus citokineket nem megfelelően kontrollált módon termeli. A NEC pathomechanizmusában a leukocita-adhézió és aktiváció, citokinek és reaktív oxigéngyökök felszabadulása, komplement aktiváció fontos szerepet játszik, amelynek eredménye a bélfal

fokális elhalása [14]. Ennek a károsodásnak a kiterjedése vezet a bélfal generalizált gyulladásához és elhalásához [15,16].

A III. stádiumú NEC esetén súlyos általános állapot, bélperforáció, peritonitis és szisztémás fertőzés, valamint shock következik be. Az érintett bélszakasz műtéti eltávolításakor fennáll annak a kockázata, hogy 'rövid bél' szindróma alakul ki.

1.3.5. Bronchopulmonaris dysplasia

A BPD az éretlenség miatt megzavart tüdőfejlődés és a tüdőkárosító perinatális hatások következtében alakul ki. Az igen kis születési súlyú koraszülöttek 20-30%-ában jelentkezik, a morbiditás és mortalitás egyik vezető oka ebben a populációban [17,18].

BPD esetén a tüdő a perinatális időszakban sérül, ez vezet a tüdőszövet strukturális károsodásához, az alveolarizáció és a tüdő érhalózat fejlődési zavarához. Klinikailag az elhúzódó légzéstámogatási igény, elsősorban oxigén dependencia jellemzi. Az állapot súlyossága széles határok között mozoghat. A légzésszavart a fertőzések és a szervezetet érő egyéb stresszhatások jelentősen fokozhatják. Ezáltal egy önrontó kör alakulhat ki. Az állandó gyulladás tovább rontja a tüdőállományt, a beteg ezért egyre rosszabb állapotba kerül, miközben egyre fogékonyabb lesz a fertőzésekre.

A krónikus hypoxia miatt a fejlődés elmarad, amelyhez hozzájárul a fokozott légzési munka miatt megnövekedett energiaigény is. Ezzel magyarázható a táplálási nehezítettség is, ami tovább súlyosbítja a retardációt. A betegek a legyengült szervezet és a károsodott tüdő miatt fokozottan érzékenyek a fertőzésekre, hajlamosak a tüdőgyulladásra. A betegség előrehaladtával a tüdőkárosodás kihat a szívre is, pulmonális hipertónia alakul ki, ami végül akár jobb szívfél elégtelenségig (cor pulmonale) is fokozódhat.

1.3.6. Retinopathia prematurorum (ROP)

Magzatban a retinaereken viszonylag kevés vér, ezzel szemben az érhártyán sok vér áramlik át. Emiatt az érhártya fontos szerepet játszik az ideghártya oxigenizációjában és tápanyag-ellátásában. A retinát ellátó erek autoregulációja koraszülötteknél gyakorlatilag teljes mértékben hiányzik, ami ahhoz vezet, hogy a vérnyomás ingadozásával együtt a retina oxigénellátása is változik [20]. Koraszülötteknél az érhártya erei a megváltozott oxigéntenziót sem tudják még szabályozni: ha az oxigéntenzió nő, nem húzódnak össze az erek, így az ideghártyába sok oxigén kerül [21].

A ROP első, akut fázisa a retinaerek autoregulációjának a csökkenése és az oxigéntenzió hirtelen postnatalis emelkedésének az eredménye: a normális *in utero* VEGF-irányította retina érfejlődés abbamarad. A fokozott oxigénszint hatására károsító szabadgyökök (ROS) képződnek, illetve fokozódik az NO-termelés. A szabadgyökök miatt a már kialakult erek obliterálódnak [22].

A ROP második fázisa hypoxiával függ össze, ekkor az erek perfusioja csökken. Ekkor a kis szöveti oxigéntenzió különböző növekedési faktorok, így a VEGF szintjének az emelkedéséhez vezet. Ennek eredménye a gyulladás, kóros érképződés, fibrosis és a retina leválása [23]. A ROP a szemfenéki kép alapján különböző súlyossági stádiumú lehet [24]; V-s stádiumú ROP esetén súlyos látáskárosodás (vakság) következik be.

1.4. Közös elemek a perinatális szövődmények pathomechanizmusában

1.4.1.A perinatális szövődmények legfontosabb kockázati tényezője: a koraszülés

A perinatális szövődmények legfontosabb kockázati tényezője az éretlenség, ami miatt a szervezet nincs még felkészülve az adaptációval járó kihívásokra. Ahogy az 1. táblázat adatai is jelzik, alapvetően meghatározza a szövődmények kockázatát, hogy mennyivel korábban jön a világra a gyermek.

A koraszülést kiváltó okok közül kimagaslik a korai burokrepedéshez vezető anyai fertőzés (az igen alacsony születési súlyú kohorszokban ez az oka a koraszülések harmadának), ami a magzati gyulladásos válasz szindróma (FIRS) hátterében áll.

1.4.1.1. Chorioamnionitis

Az anyai fertőzések túlnyomó hányada chorioamnionitis (CA) révén vezet koraszüléshez. CA a koraszülések több mint 50%-ában szövettanilag igazolható [25], ami mögött legtöbbször aszcendáló hüvelyi fertőzés áll. Ritkán a különböző mikroorganizmusok a hasüregből a tubákon át, esetleg amniocentézis során tüvel történő kontamináció révén jutnak az amnionfolyadékba. Gomez és mtsai szerint az összes koraszülés több mint negyedében az amnionfolyadékban patogén mikroorganizmusok elszaporodása áll [26]. Ezen belül, az idő előtti burokrepedés nélkül meginduló koraszülések 11%-ában, korai burokrepedéssel együtt viszont már 58%-ában volt bizonyítható valamilyen kórokozó jelenléte.

Az amnionfolyadékban elszaporodó mikroorganizmusok megtámadhatják a magzatot. Leggyakrabban az emésztőtraktus és a légzőrendszer nyálkahártyáján keresztül hatolnak be a magzat szervezetébe, de funisitis, chorionitis, akut villitis és intervillitis esetén közvetlenül a véráramba is bejuthatnak. Ennek eredménye az akut gyulladásos reakció, ami – hasonlóan a sepsissel és sokszervi elégtelenséggel járó felnőttkori szisztémás gyulladásos válasz szindrómához – excesszív proinflammatoricus citokin felszabadulással jár a magzat szervezetében. Ez a magzati gyulladásos válasz szindróma, a FIRS.

1.4.1.2. Magzati gyulladásos válasz szindróma (FIRS) és koraszülés

A magzatban a gyulladásos citokinek többféle mechanizmuson keresztül vezethetnek a szülés idő előtti megindulásához [27]:

1. A decidua kolonizációjakor felszabaduló PG-k és egyéb kemokinek hatására a deciduát granulocyták infiltrálják. Ezek a decidua necrosisát okozzák, ami idő előtti burokrepedéshez, és így koraszüléshez vezet.
2. Az amnionfolyadékban található fehérvérsejtek a magzattól származnak. Számuk CA-ben nő. Az amnionfolyadékban az aktivált neutrophil granulocyták szekréciós termékei ezért jól jellemzik a CA és a FIRS jelenlétét és súlyosságát. Ilyen szekréciós termék a mátrix metalloproteáz-8 (MMP-8) is. Az MMP-8-nak fontos szerepe van az intrauterin gyulladásos válaszreakciókban, a burokrepedésben és a méhnyak érésében (16). Szoros kapcsolatot találtak a CA, a FIRS szövettani jeleként értelmezett funisitis, és az MMP-8 szintek között is.
3. A méhben a myometrium sejtjeinek szerkezete a citokinek hatására megváltozik.
4. A citokinek hatására - még nem teljesen tisztázott mechanizmuson keresztül - az anyai szervezetben a szülést megindító neuroendokrin változások következnek be.

A FIRS mellett, hogy központi szerepet játszik a koraszülés megindulásában, független rizikótényező a BPD és a PVL szempontjából [25,28]. A FIRS során fellépő szisztémás gyulladás közvetlenül károsíthatja a szerveket, megzavarhatja a magzati szervek fejlődését, valamint fokozhatja a károsító tényezők (pl. BPD esetén az oxigéntoxicitás) iránti fogékonyságot [29].

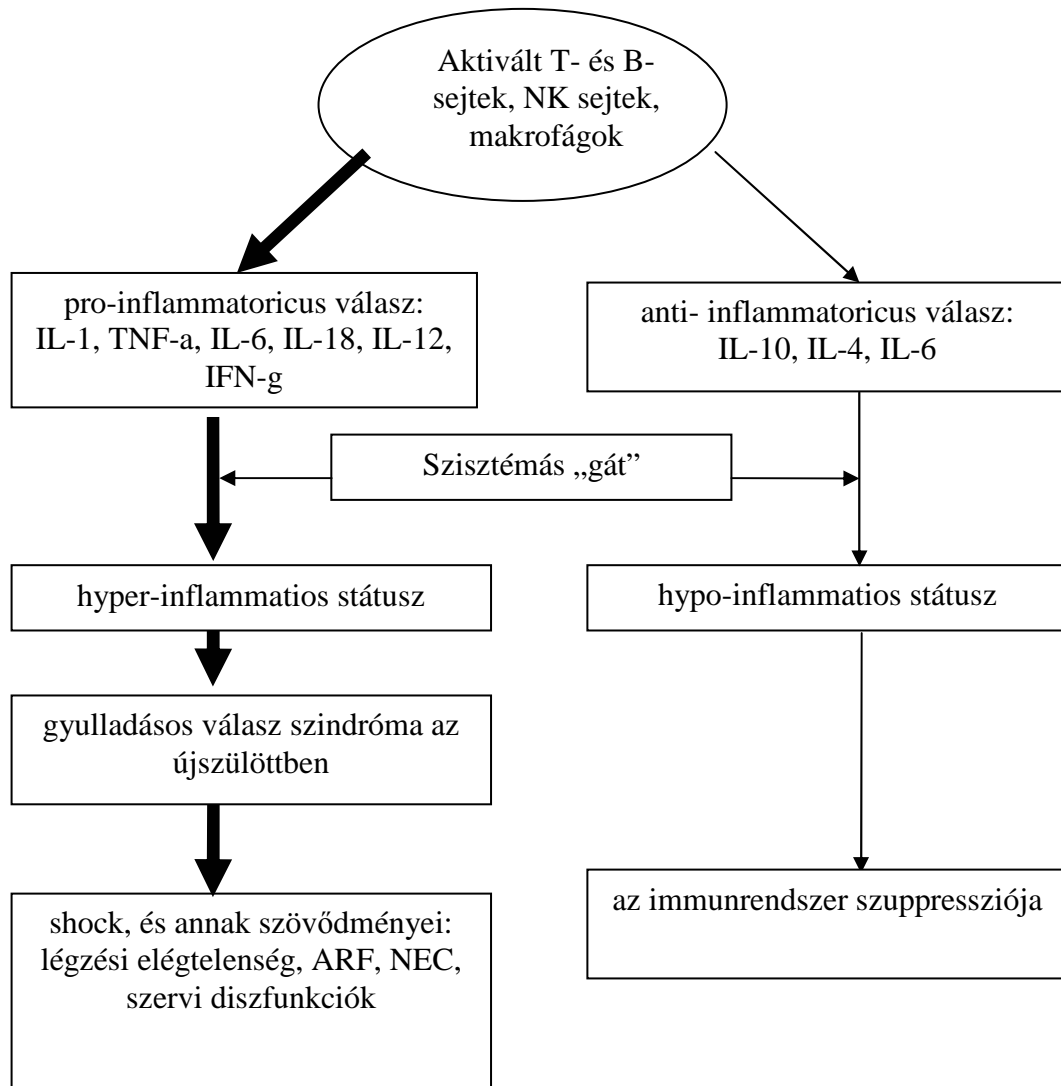
1.4.2.1. Közös elem a perinatális szövődmények pathomechanizmusában: a gyulladás

1.4.2.1.1. A gyulladás mediátorai: a citokinek

Az immunrendszer sejtjei között a kommunikáció citokineken keresztül valósul meg. Valamennyi immunsejt képes citokinek termelésére, illetve rendelkezik a citokinreceptorokkal [30]. A citokinek rendszerint valamilyen külső stimulus hatására újonnan termelődnek; a szintézis után a citokinek azonnal kiválasztódnak a sejtből, ezáltal biztosítva a gyors hatás kialakulását.

A citokinek rendszerint kaszkádok formájában, felerősítve fejtik ki hatásukat nagy affinitású receptorok közvetítésével. Bizonyos citokinek egyértelműen fokozzák a gyulladást, ezeket proinflammatoricus citokineknek [31] nevezik, míg más citokinek ellensúlyozzák a proinflammatoricus citokinek aktivitását, ezek az antiinflammatoricus citokinek [32]. A kettő közötti határ sokszor nem egyértelmű [33].

Az immunválaszt a gyulladásos fehérjék komplex és bonyolult hálózata alakítja ki. A pro- és antiinflammatoricus citokinek egyensúlya, illetve ezen egyensúly felborulása befolyásolhatja az egyes betegségek kialakulását és azok kimenetelét (lisd. 2. ábra).



2. ábra A proinflammatoricus citokinek hatásának fokozódása, a pro- és antiinflammatoricus válasz egyensúlyának felborulása és a perinatális szövődmények. Az ábrán csak azokat a citokineket mutatom be, melyek genetikai polymorphismusait vizsgáltuk.

Ha az immunrendszer pro- és antiinflammatoricus citokinjei közötti egyensúly felborul, gyulladásos válasz szindróma, vagy immunszuppresszió következik be. Az egyes citokinek végső hatását – azaz, hogy adott esetben pro-, vagy antiinflammatoricus-e – a citokin szekréciójához szükséges idő, az a környezet, ahol hatását kifejti, szinergista vagy antagonista hatású elemek jelenléte, a citokinreceptorok mennyisége, illetve az adott szövet/sejt citokin iránti érzékenysége egyaránt befolyásolja [31].

1.4.2.1.1. Döntően proinflammatoricus hatású citokinek

1.4.2.1.2.1. Tumor necrosis faktor- α

A TNF α nemcsak a természetes immunitás egyik legfontosabb mediátora, hanem közvetlen citotoxikus hatása révén számos betegség patogenezisében is meghatározó szerepet játszik. [34,35]. Döntően a makrofágok termelik, elsősorban endotoxin-stimuláció, IFN γ , vagy migrációgátló faktor hatására, de egyéb aktivált immunsejtek is szintetizálják. A termelés egyik legkifejezettebb ingerét az endotoxint termelő, vagy lipopolysaccharidot (LPS) tartalmazó Gram-negatív baktériumok jelentik.

A TNF α termelését proinflammatoricus és antiinflammatoricus citokinek is befolyásolják [35]. Az IFN γ a TNF α termelés egyik fontos, szinergista hatású stimulánsa, az IL-10 viszont csökkenti a TNF α szintézist. Kis koncentrációban a TNF α aktiválja a gyulladásos reakciókat. Elősegíti az érendothel sejteken az adhézións molekulák expresszáódását, fokozza a neutrophil és eozinofil sejtek, makrofágok bactericid hatását. Részt vesz a specifikus immunválasz koordinálásában is: hatására fokozódik a B-limfociták immunglobulin- és a fibroblasztok kolóniasztimuláló faktor termelése. Akutan, nagy koncentrációban a TNF α pirogén. Aktiválja az alvadási rendszert és ennek révén szövetkárosodást (acut renalis tubularis necrosist, gastrointestinalis necrosist, akut légzési distresszt, diffúz intravascularis coagulopathiát és shockot) vált ki.

Korábbi vizsgálatok szerint az újszülöttek korai sepsise emelkedett citokin-szintekkel jár együtt. Endotoxin shockban a TNF α magas szintje szerepet játszik a perifériás vascularis resistantia és a szív teljesítményének csökkenésében. A pulmonaris endothelsejtekre kifejtett hatásaként légzési distressz jelentkezik.

Berner és mtsai szeptikus újszülöttek köldökzsinórvérében határozták meg a TNF α , IL-1 β , IL-6 és IL-8 szérumszintjét [36]. A koraszülöttségtől függetlenül szeptikus újszülöttekben valamennyi citokin szintje lényegesen magasabb volt egészséges, illetve olyan újszülöttekkel összehasonlítva, akiknél felmerült a sepsis lehetősége. Atici és mtsai szerint a TNF α szérumszintje szeptikus újszülöttekben szignifikánsan magasabb [37].

A TNF α a sepsis szövödményeiben is fontos szerepet játszik [38-40]. Súlyos infectio hatására romlik a vese perfusioja, ennek a folyamatnak a mediátorai többek között a gyulladásos citokinek. A gyulladásos citokin-válasz a TNF α szecernálásával kezdődik, ezt követi az IL-1 β , majd ezután jelenik meg az antiinflammatoricus IL-6.

Egyes irodalmi adatok szerint a TNF α fontos szerepet játszik a NEC patogenezisében is [41]. BPD-s újszülöttekben mind az amnionfolyadékban, mind pedig a légutakban magasabb TNF α szintet mértek [42].

A TNF α vizsgált genetikai polymorphismusai

A TNF α gén promoter régiójában –308-as helyen a G→A tranzíció mellett nagyobb a TNF α szint A–238-as pozícióban a G→A csere mellett csökkent a TNF α termelés.

A TNF α G⁻³⁰⁸A alléljének a prevalenciáját vizsgálták spontán koraszülő nőkben. Dizon-Townson és mtsai nem találtak különbséget a polymorphismus előfordulásában kontroll és spontán koraszülő nők között [43]. Ezzel ellentétben mások összefüggést írtak le a TNF α ⁻³⁰⁸A hordozása és a CA és a spontán koraszülés között [44,45].

1.4.2.1.2.2. Interleukin-1

Az IL-1 családot az IL-1 α , IL-1 β , és a hatásukat gátló IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) alkotja [30]. Az IL-1 α -t és az IL-1 β -t (a továbbiakban: IL-1) a mononukleáris sejtek termelik gyulladás és baktérium hatására. Az IL-1 stimulálja a T- és a B-limfocitákat. Az IL-1 a TNF α -val szinergista módon hatva fokozza a foszfolipáz A₂, az iNOS aktivitását, az endothelialis adhéziós molekulák expresszióját és a kemokin szintézist. Ennek eredménye vazoaktív és gyulladásos mediátorok termelődése.

Chorioamnionitisban (CA) a nagy IL-1 β szint befolyásolja a magzat fejlődését és az újszülöttkori morbiditást [46]. FIRS-ben szenvedő újszülöttek esetén az amnionfolyadék IL-1 β szintje magasabb volt a kontroll újszülöttekéhez képest. Kimutatták, hogy nagy IL-1 mellett csökken ugyan az IRDS kockázata, viszont nő a BPD-é; ez prediktív BPD-re [47]. Szeptikus újszülöttek köldökszínórvérében [48] az IL-1 szint lényegesen magasabb volt, mint az egészséges, illetve sepsis-gyanús, de nem szeptikus újszülöttekben.

A sepsis során a felszabaduló citokinek jelentős hatást gyakorolnak a sepsis szövődményeinek a kockázatára is; az IL-1 β a TNF α -val együtt fontos szerepet tölt be a súlyos fertőzéssel összefüggésben levő ARF kialakulásában [49].

Az IL-1 β megváltozott termelése szerepet játszhat NEC-ben. Kimutatták, hogy az IL-1 β mRNS-e a NEC-es újszülöttek bélrezekátumainak a nyálkahártyájában és a teljes bélfal vastagságában nő [50]. Ezzel összhangban NEC-es újszülöttek szérumában magasabb IL-1 β szintet mértek [51].

IL-1 vizsgált genetikai polymorphismusai

Az IL-1 β gén SNP-i közül mi az 5-ös exon 3954-es helyén a C→T tranzíció kapcsolatát elemeztük a perinatális morbiditással. Irodalmi adatok szerint T jelenlétében nagyobb mennyiségű IL-1 β termelődik [52]. Potenciális jelentősége miatt koraszülésben vizsgálták, de az anyai SNP hordozás és a koraszülöttség között nem találtak kapcsolatot [53].

1.4.2.1.1.3. Interleukin-12

Az IL-12 a veleszületett immunitás alapvető mediátora, de aktiválja a sejt-közvetített szerzett immunitást is [54]. Az antigénprezentáló sejtek termelik bakteriális endotoxin, intracelluláris kórokozók és antigénnel stimulált T sejtek hatására. Az IL-12-t 70 kD tömegű heterodimerek alkotják, melyek egy 35kD és egy 40 kD tömegű alegységből épülnek fel; utóbbi elengedhetetlen ahhoz, hogy az IL-12 hatását kifejtse.

Fokozza a natural killer és T sejtek IFN γ termelését, ami makrofág aktivációhoz vezet. Hatására a CD4 pozitív T sejtek Th₁ sejtekké differenciálódnak. A natural killer sejtek IL-12 hatására limfokin-aktivált ölü sejtekké alakulnak, aktiválódnak a CD8 pozitív cytotoxikus limfociták is.

Egészséges újszülöttekben az IL-12 szint jellegzetesen alacsony; több megfigyelés szerint ez fontos szerepet játszik abban, hogy az újszülött immunválasza Th₂ irányba eltolt [55]. Az alacsony IL-12 szint miatt az IFN γ termelés is csökken. Az IL-12 szintnek prognosztikai értéke volt lélegeztetett koraszülöttekben; alacsony IL-12 mellett nőtt a mortalitás kockázata [56].

IL-12 vizsgált genetikai polymorphismusai

Az IL-12 p40 alegység génjén promoter régióban is egy GC/GC/CTCTAA cserét írtak le, ami csökkent IL-12 expresszióval jár. Összefüggését perinatális szövődeményekkel nem vizsgálták.

1.4.2.1.1.4. Interferon-gamma

Az IFN γ (II típusú interferon) a legfontosabb makrofág aktiváló citokin [54]. Az IL-12-vel stimulált natural killer és T sejtek termelik. Az aktivált makrofágokban növeli a szöveti faktor, a fagocita oxidáz, az iNOS, a növekedési faktorok, a citokinek (pl. IL-12) és a mikrobicid enzimek szintézisét és expresszióját. Ugyancsak nő az MHC I és II expressziója az

antigénprezentáló sejteken. Az IFN γ az adaptív immunitást Th₁ irányba hangolja át, fokozza a Th₁ és gátolja a Th₂ sejtek képződését. Az IFN γ hatással van a B-sejtek immunglobulin termelésére is, gátolja az IL-4 függő immunglobulinok képződését. Az IFN γ a neutrophil granulocitákat és natural killer sejteket is aktiválja.

Az IFN γ termelés egészséges újszülöttekben alacsony [55]. Ennek hátterében többek között az IL-12 és az IL-18 szint csökkenése áll, illetve az, hogy az IFN γ gén átírása közvetlenül gátolt. Koraszülötteknél, FIRS-sel kapcsolatban az IFN γ szint emelkedik.

IFN γ vizsgált genetikai polymorphismusai

Az IFN γ gén esetében egy ⁺¹⁰⁰⁴ CA repeat polymorphismusról igazolták, hogy csökkent IFN γ expresszióval jár, de ennek a polymorphismusnak a kimutatása technikailag nem egyszerű. A CA repeat polymorphismus viszont szoros kapcsoltságot mutat a T⁺⁸⁷⁴A SNP-vel, ezért általában –velünk együtt – ezt vizsgálják [57].

Az IFN γ gén T⁺⁸⁷⁴A SNP hordozás perinatológiai jelentőségét jelzi, hogy a fokozott IFN γ szinttel járó genotípus anyai és magzati oldalról egyaránt emelheti a spontán koraszülés veszélyét [58].

1.4.2.1.1.5. Interleukin-18

Az IL-1-gyel strukturálisan homológ IL-18-t a makrofágok termelik bakteriális endotoxinok hatására [34]. A natural killer és a T-sejtekben az IFN γ termelést fokozzák, az IL-12-vel szinergista módon hatva. Az IL-18 ezért a sejt-mediálta immunitás egyik fontos induktora. Az IL-1-hez hasonlóan az IL-18 is egy prekursorból alakul ki.

Az IL-18 termelő kapacitás újszülötteknél csökkent: több vizsgálat is azt mutatja, hogy ebben a korban a mononukleáris sejtek bakteriális stimuláció hatására csökkent IL-18 termeléssel reagálnak [55]. Koraszülötteknél, úgy tűnik, az IL-18 termelés viszont nagyobb: egy vizsgálat kimutatta, hogy korai burokrepedés és FIRS esetén az amnionfolyadék IL-18 szintje emelkedik [59]. Mások eredményei alapján a PVL szempontjából prognosztikus az IL-18 magas szintje [60].

IL-18 vizsgált genetikai polymorphismusai

Az IL-18 promoter szakaszán számos polimorf helyet azonosítottak, melyek a transzkripció faktor kötőhelyeket érintenek. A -137 helyen jelen lévő G \rightarrow C tranzíció a H4TF-1, a -607 nukleotidot érintő C \rightarrow A tranzíció egy potenciális cAMP-reszponzív element-kötő fehérje kötő helyet érint, utóbbi esetén az IL-18 szint csökken [61].

1.4.2.1.2. Döntően antiinflammatoricus hatású citokinek

1.4.2.1.2.1. Interleukin-4 (IL-4) és receptora

Az IL-4 pleiotrop hatású citokin, mely befolyásolja a T helper (Th) sejtek differenciálódását [30]. Érett Th2 sejtek, valamint a hízósejtek és a bazofil sejtek termelik [62]. Hatására a Th prekursor sejtek Th₂ irányba differenciálódnak. A Th₂ sejtek ugyancsak termelnek IL-4-et, mely így a citokin autokrin termelődése révén tovább erősíti a sejtproliferációt. A Th₂ sejtek termelte IL-4 és IL-10 a makrofág eredetű IL-12 termelés csökkentése révén a Th₁ válasz szuppressziójához vezet. Az IL-4 részt vesz a Th₂ válasz irányításában is, gátolja a gyulladásos citokinek expresszióját és elválasztását. A monocita eredetű citokinek (például a IL-1, TNF α , IL-6) hatását blokkolja. Emellett gátolja a makrofágok citotoxikus tevékenységét és nitrogénmonoxid termelését. Fokozza viszont az antiinflammatoricus IL-1ra termelődését. Az IL-4 több strukturális sejt működését is befolyásolja. Bakteriális fertőzés esetén hatása a kórokozó típusától függ; úgy tűnik, Gram-negatív fertőzésben fokozza, Gram-pozitív baktériumok okozta fertőzésben csökkenti a védekezőképességet. Az IL-4 hatását az IL-4 receptor közvetíti.

Az IL-4 szerepe újszülöttkori kórképekben nem tisztázott; a vizsgálatok során az IL-4 szint többnyire a kimutathatóság alatt volt.

IL-4 receptor vizsgált genetikai polymorphismusa

Vizsgálataink során nem az IL-4, hanem az annak hatásait közvetítő receptor (IL-4 α) SNP-inek a kapcsolatát elemeztük a morbiditással. Az IL-4receptor α lánc 1902 nukleotid A \rightarrow G csere esetén az 576-os aminosav argininra változik. Ennek hatására fokozódik a receptor szignál transzdukciós aktivitása [63]. Újszülötteknél nem vizsgálták jelentőségét.

1.4.2.1.2.2. Interleukin-6

Az IL-6-ot monociták, makrofágok és endothelsejtek termelik. Sokáig proinflammatoricus citokinnek tekintették, mely LPS hatására a TNF α -val és az IL-1-gyel együtt aktiválódik [64].

Az IL-6 csökkenti a TNF α és az IL-1 termelődését. Ugyancsak csökkenti egyéb, proinflammatoricus hatású fehérjék szintézisét, viszont nem befolyásolja más

antiinflammatoricus citokinek, mint az IL-10 és a transforming growth factor- β termelődését [65]. Az IL-6 fokozza az antiinflammatoricus IL-1ra és a solubilis TNF α receptorok elválasztását. A citokin limfoid és nem-limfoid sejtekben is képződik és befolyásolja T és B-sejtek differenciálódását és proliferációját. Emellett az IL-6-nak igen sokrétűek a hatásai, részt vesz az endokrin és a metabolikus folyamatok szabályozásában is.

A legtöbb citokinhez hasonlóan tehát az IL-6-nak is van pro- és antiinflammatoricus tulajdonsága, emiatt besorolása is változó. Az esetek egy részében pro-, másik részében antiinflammatoricus hatású citokinként írják le. Értekezésemben az utóbbi típusú citokinekhez soroltam. Hatásait az IL-6 receptoron keresztül fejtí ki, ami T-sejteken, aktivált B-sejteken, valamint perifériás monocitákon és makrofágokon van jelen [64].

Korábbi vizsgálatok szerint az újszülöttek korai sepsise emelkedett citokin-szintekkel jár együtt [37, 39, 66-68]. A gyulladásos citokinek mellett nagyobb IL-6-szintet mértek NEC-es újszülöttek szérumában; sőt, úgy tűnik, hogy a köldökszínór-vérben mért magasabb IL-6 szint prediktív értékű a NEC szempontjából [69].

Az IL-6 nemcsak a NEC-et, de a BPD-t is előre jelezheti: szintje már azoknak a koraszülötteknek az amnionfolyadékában is, akiknél később BPD alakult ki [29].

Az IL-6 vizsgált genetikai polymorphismusai

Az IL-6 promoter -174 G \rightarrow C SNP jelenlétében kisebb plazma IL-6 szinteket mértek [70]. A C allél mellett csökken a bazális, valamint a LPS-re és az IL-1-re adott transzkripciós válasz is.

Egyes kisebb vizsgálatokban hasonlóan találták a spontán abortáló és kontroll nők között az IL-6 G⁻¹⁷⁴C polymorphismusok előfordulási gyakoriságát, míg a ⁻¹⁷⁴CC genotípus ritkább volt koraszülő nőkben [71]. A szeptikus koraszülöttekben kapott megfigyeléseket a 4.1.2.2. részben tárgyalom.

1.4.2.1.2.3. Interleukin-10

Az IL-10-et a CD4⁺/CD8⁺ T-sejtek, valamint B-sejtek, makrofágok, aktivált hízósejtek és keratinociták termelik. Ez a humán immunválasz legfontosabb antiinflammatoricus hatású citokinje; gátolja a Th₁ eredetű gyulladásos fehérjék szintézisét. Gátolja a monocita / makrofág eredetű proinflammatoricus citokinek termelődését is. A makrofágokra gyakorolt

szuppresszív hatással ellentétben stimulálja a B-sejtek proliferációját, differenciálódását és antitesttermelését.

Az indukálható IL-10 termelés a terhességi korról arányosan nő. Ennek ellenére úgy tűnik, perinatális szövődményekben nem az IL-10 hiánya játszik szerepet. A magasabb amnion IL-10-szintet a második trimeszterben kapcsolatba hozták a koraszülés kockázatával [72]. Fertőzés esetén a konstitutív IL-10 termelés koraszülöttekben nagyobb, sőt, prediktív a későbbi BPD-re is [73]. Más vizsgálatok korai sepsisben nagyobb IL-6 és IL-10 szintet mértek nem szepszis koraszülöttekhez képest, illetve egyéb citokinekkal együtt prediktívnek találták a sepsis-asszociált DIC kialakulása szempontjából [74]. Az IL-10 koraszülöttek késői fertőzésében is emelkedik [75]. Szérumszintje NEC-ben is emelkedik, a gyulladásos folyamat progressziójával párhuzamosan [76].

IL-10 genetikai polymorphismusai

Az IL-10 génjének promotor régiójában több polimorf hely is ismert; ezek közül a -1082-es helyen lévő G→A tranzíció mellett a stimulált T-sejtek kisebb mennyiségű IL-10-et termeltek [77]. Egy meta-analízisben a nagy IFN γ és kis IL-10 termeléssel járó polymorphismus hordozó nők között gyakoribb volt a koraszülés [78]. Egy másik vizsgálat szerint is koraszülésre hajlamosít a kis Th₂/Th₃ és nagy Th₁ citokin szinttel járó polymorphismus-mintázat [79].

1.4.2.2. A gyulladás elemei: adhézións molekulák. A selectinek

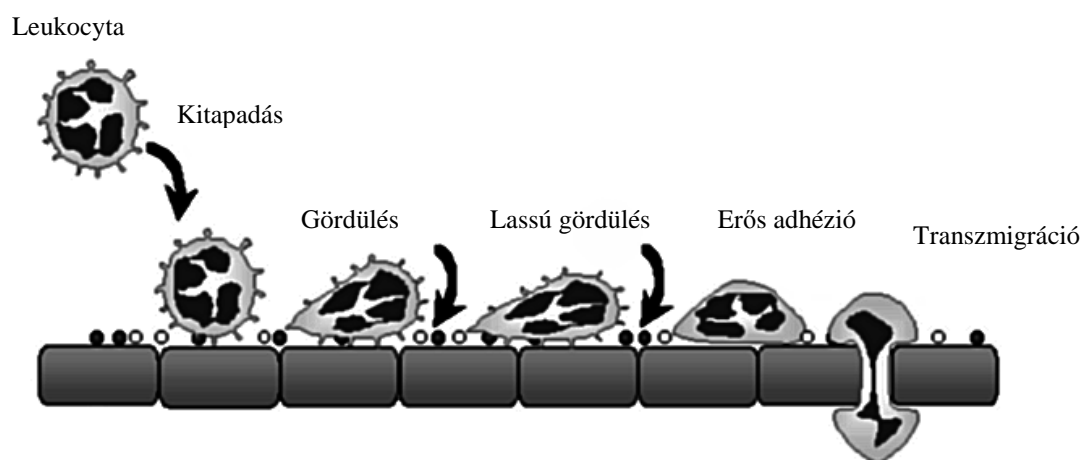
A gyulladásos folyamat iniciálásában a sejt-sejt, sejt-extracelluláris mátrix közötti kölcsönhatás alapvető jelentőségű; ehhez adhézións molekulák szükségesek [80]. Az adhézións molekulák közül a selectinokkal foglalkoztunk, melyek elsősorban a limfocita-homingban és a leukociták extravazációjában játszanak fontos szerepet.

Három típust különböztetnek meg: az E és P és L-selectint (összefoglalva lsd. 2. táblázat).

Család	Előfordulás	Partner sejt	Ligand
L-selectin (CD62L)	Leukocita	aktivált endothelsejt, nyirokcsomó venula	Szialis-Lewis X-szerű molekulák (sLx)
P-selectin (CD62P)	aktivált endothelsejt, trombocita	Neutrophil granulocita, monocita, limfocita	P-selectin glikoprotein ligand-1 (PSGL-1), sLx
E-selectin (CD62E)	Citokin-aktivált endothelsejt	Mieloid sejtek, monociták, limfociták	E-selectin glikoprotein ligand-1 (ESGL-1), sLx

2. táblázat. Selectinek három fő típusa

A különféle sejteken eltérő selectin és selectin ligand mintázat fejeződik ki, mely magyarázhatja az endotheliummal való interakció különbözőségét. Az összes neutrophil granulocita és monocita expresszál L-selectint, valamint az E-, P- és L-selectin ligandjait, míg egyes B- és T-sejt populációkon nem jelennek meg. Sőt, nem minden szerv érendothel sejtjei expresszálnak E- és P-selectint a gyulladásos stimulusra, szövetsérülésre. A selectin mintázatban megfigyelhető eltérés részben magyarázhatja a leukocita populációk különféle szövetekbe történő vándorlásának képességét.



3. ábra Selectinek az adhézióban (forrás: <http://bme.virginia.edu/ley/>)

Selectinek szerepe az immunválaszban

A selectineknek fontos szerepe van a gyulladásos folyamatokban, az immunrendszer működésében, a hemostasisban, a thrombosisban és a sebgyógyulásban egyaránt. Az aktivációt követően a rolling legkorábbi szakaszáért (<20 perc) az L-selectin minor szerepe mellett szinte kizárólag a P-selectin felelős. A rolling későbbi fázisában (>20 perc) a P-selectin gyors down regulációja után az L-selectin veszi át a fő szerepet. Mindezek mellett az L-selectinnek szerepe van a neutrophil granulocyták egymással történő interakciójában is. A P-selectin a rolling legkorábbi fázisát mediálja. Az L- és P-selectin együttes blokkolásával a neutrophil granulocyták felsorakozása teljesen gátolható. Ezek a megfigyelések megerősítik az L- és P-selectin molekulák fontosságát a gyulladás korai fázisában. Az E-selectin szintén a leukocita rollingban játszik szerepet a gyulladás, illetve szövetsérülés helyén. Mivel gyulladásos mediátorok hatására *de novo* képződik, ezért a rolling korai fázisában nem játszik szerepet.

Az adhézíós molekuláknak alapvető szerepe van a normál terhességben. Selectinek magas expressziója figyelhető meg a placentában, mely elengedhetetlen a megfelelő implantációhoz és a placenta normál fejlődéséhez [81]. Az L-, P- és E-selectin expresszió eltérései szerepet játszhatnak a koraszülésben és perinatális szövődményekben is. Koraszülöttek köldökszinór véna endothel sejtjein csökkent a P-selectin expressziója. Ez hozzájárulhat a neutrophil granulocyták csökkent mértékű kivándorlásához a gyulladás helyén. Akut, bakteriális fertőzésben szenvedő újszülöttekben Buhrer és mtsai csökkent L-selectin expressziót találtak a köldökvér neutrophil granulocitáin és monocitáin [82].

A tüdőt érintő gyulladásos folyamatok is részben selectin-mediáltak. Magasabb E-selectin szintek prediktívek a betegségre [83]. A perinatális időszakban az alacsony solubilis L-selectin szintek szintén jól korrelálnak a későbbi oxigénkezelés hosszával és a BPD rizikójával [84]. A BPD kezelésben alkalmazott szteroid kedvező hatása részben az L-selectin expresszióra kifejtett hatásán keresztül valósul meg [85].

Selectinek genetikai polymorphismusai

Mind a három selectin esetében egy aminosav-cserével járó SNP-t vizsgáltunk. Az L-selectin esetében egy C → T nukleotid tanzíció vezet a 213-as aminosav Pro-Ser cseréjéhez, ez befolyásolhatja a fehérvérsejt – endothelsejt interakció minőségét [86] P-selectinnél a Thr⁷¹⁵Pro csere egy A → C tranzíció eredménye. A solubilis P-selectin szint alacsonyabb ThrPro és ProPro, mint ThrThr fenotípus mellett [87]. Az E-selectin esetében a 128-as aminosav Ser Arg-ra cserélődik; Arg esetén a solubilis E-selectin plazma szintje nő, a neutrophil és mononucleáris sejtek fokozott rollingját és adhézíóját okozva [88]. A selectin-gének polymorphismusainak perinatális kórképekkel való kapcsolata munkánk előtt nem volt ismert.

1.4.2.3. Természetes immunválasz receptorai: a CD14, a toll-like receptor 4 és a nukleotid kötő oligomerizációs domén (NOD2)

A baktériumok a makrofágok aktivációját különböző sejtfelszíni és intracellularis receptorokon keresztül váltják ki [89]. A CD14 nagy mennyiségben az antigén prezentáló sejtek felszínén fejeződik ki bakteriális stimulusok, INF- γ , TNF α hatására. Ez a TLR4-el koreceptorként a Gram-negatív baktériumok LPS-ét, valamint számos egyéb mikrobiális aktivátort köt meg. A TLR4-et számos immunsejt-típus expresszálja; az LPS mellett több más exogén (vírus- és gombafehérje) és endogén liganduma (HSP70) van [90]. Az LPS indukált

CD14/TLR4 közvetített jelátvitel $\text{TNF}\alpha$, IL-6, IL-8, PG, szuperoxid és szöveti faktor szintézist indukál monocitákban, illetve leukocita-adhéziót vált ki.

Míg a TLR-ok membránhoz kötődnek, a NOD2 egy intracelluláris receptor [91], ami a peptidoglikán degradációja során keletkező muramil-dipeptidet köti. Elsősorban antigénprezentáló sejtekben és az epithel sejtekben expresszálódik, különösen $\text{TNF}\alpha$ és $\text{INF}\gamma$ hatására. Különböző jelátviteli utakon keresztül a NOD2 fokozhatja, vagy gátolhatja a gyulladásos immunválaszt. A NOD2-t a CARD15 gén kódolja.

Koraszülöttekben a bakteriális jelfelismerő receptorok még éretlenek: erre utal, hogy a CD14, valamint a TLR-4 receptorok expressziója kisebb, mint érett újszülötteknél. Valószínűleg ez szerepet játszik a koraszülöttek bakteriális fertőzések iránti fokozott hajlamában [92-94]. A CD14 expresszióját a fertőzések azonban koraszülötteknél is fokozhatják. A solubilis CD14 szint szeptikus koraszülötteknél emelkedett [95].

Genetikai polymorphismusok

A CD14 C^{-260}T , a TLR4 A^{+896}G , C^{+1196}T , valamint a CARD15 G^{+2722}C , C^{+2104}T és $^{+3020}\text{insC}$ SNP-i megváltoztathatják a bakteriális antigénnel szemben kialakuló természetes immunválaszt. A CD14 gén promoter régióját érintő $-260 \text{ C} \rightarrow \text{T}$ szubsztitúció hatására fokozódik a monociták mCD14 expressziója és emelkedik a szérumban a solubilis CD14 szint [96]. A TLR4 gén A^{+896}G és C^{+1196}T , valamint a CARD15 gén G^{+2722}C , C^{+2104}T , és $^{3020\text{ins}}\text{C}$ SNP-k a receptorok LRR doménjében egy-egy aminosav cseréjéhez (sorrendben: $\text{Asp}^{299}\text{Gly}$, $\text{Thr}^{399}\text{Ile}$, $\text{Gly}^{908}\text{Arg}$, $\text{Arg}^{702}\text{Trp}$, $\text{Leu}^{1007}\text{Pro}$) vezetnek, ennek eredményeként csökken az LPS által kiváltott gyulladás [97,98]. A CARD15 gén SNP-inek a hatására megváltozhat a gyulladásos citokinek termelése stimulustól függen nőhet, vagy csökkenhet.

A bakteriális receptorok SNP-it koraszülötteknél két vizsgálat során elemezték; az egyik a TLR4 $\text{Asp}^{299}\text{Gly}$ polymorphismus és a koraszülés kockázata között mutatott ki összefüggést [99], míg mások nem találtak kapcsolatot a TLR4 genotípus és a korai burokrepedés között [100].

1.4.3. Közös elem a perinatális szövődmények pathomechanizmusában: a vazoreguláció zavara. A renin – angiotenzin – rendszer.

Számos perinatális szövődmény kialakulásában a szervek hypoperfúziója, a következményes hypoxia-reperfúziós károsodás alapvető szerepet játszik. A koraszülöttek vérnyomásingadozásának a hátterében a vazoregulációs rendszerek éretlensége, az egyes szervek autoregulációjának a hiánya, valamint a fokozott fertőzéshajlam áll.

A szervezetben több értágító és érszűkítő rendszer működik: munkánk során ezek közül a RAS rendszer genetikai polymorphismusainak összefüggését vizsgáltuk a perinatális szövődményekkel.

1.4.3.1. A renin – angiotenzin – rendszer főbb elemei

A RAS rövid jellemzése

A RAS aktiválódása során az ACE hatására előanyagából, az angiotenzin I-ből kialakul az angiotenzin II (AII) – ez a molekula a felelős a RAS jellemző hatásaiért [101]. Az AII 1-es típusú receptor (AT1R) közvetíti az AII klasszikus hatásait: vazokonstrikció, a bazális értónus fenntartása. Emellett fokozza a szimpatikus aktivitást, emeli a szívfrekvenciát és az összehúzódás erejét, stimulálja a proximális tubulusokban a nátrium visszaszívódását, a mellékvesében az aldoszteron kiválasztást fokozza stb. Az AT1R aktiválódása során a receptor intracelluláris oldalán elhelyezkedő G protein (egy több alegységből álló, összetett membránfehérje) aktivációjának a hatására indul be az a kaszkád, aminek az eredményeként megjelennek az AII sejtszintű hatásai [102].

Az első ismereteket a RAS perinatális aktiválódására vonatkozóan 1979-ben Sulyok gyűjtötte [103]. Azóta több új adat vált ismertté, azonban egészséges újszülöttekben a RAS perinatális adaptációban játszott szerepe továbbra sem tisztázott: fiziológiás körülmények között a szívteljesítmény és a keringés redisztribúciója a RAS aktivitásától független [104]. Patológias körülmények esetén azonban más a helyzet: a RAS a hypoxia vagy a hypovolaemia (pl. vérzés) hatására aktiválódik, ami a szisztémás vérnyomás emelkedéséhez, a pulzusszám és a pulzustérfogató növekedéséhez, összességében a szívteljesítmény fokozódásához vezet. A RAS fokozott aktivitása a keringés redisztribúcióját is előidézi. Az agy, a szívizom, a mellékvese vérellátása nő, míg a gastrointestinalis rendszeré, vagy a veséké csökken.

Koraszülötteknél a RAS aktivitása az egészséges újszülöttekhez képest nagyobb [103,105]. Ebben szerepet játszik a perinatális stressz, az alacsony szisztémás vérnyomás, a kis veseperfusio, a negatív nátrium egyensúly, valamint a renin, az AII és az aldoszteron kis metabolikus clearance-e.

A RAS rendszer általunk vizsgált polymorphismusai

A plazma ACE szintjében fennálló egyedi különbségek mintegy feléért az ACE insertios/deletios (I/D) polymorphismusa a felelős [106]; ez a gén egy intronjában egy 287 bázispárból álló szakasz jelenlétét (insertio, I) vagy hiányát (deletio, D) jelenti. A legnagyobb

ACE-aktivitás DD genotípus esetén mérhető, ez mintegy kétszerese az II és másfélszerese az ID genotípus esetén mértnek. Az AT1R funkcionális SNP-i közül az 1166-os helyen levő A→C tranzíció jelenlétében C allél jelenlétében az AII hatása kifejezettebb [107].

Az ACE I/D és az AT1R A¹¹⁶⁶C polymorphismusok jelentőségét döntően felnőtteknél vizsgálták. Újszülöttek és koraszülöttek esetében, úgy tűnik, hogy az ACE D allél hordozás védhet IRDS-sel szemben [108], míg fokozhatja a BPD kockázatát [109]. Harding és mtsai szerint ACE DD genotípus a cardiorespiratoricus adaptáció sikerét is ronthatja [110].

Vizsgálataink során lehetőségünk nyílt arra is, hogy a többek között az AII hatás közvetítésében szerepet játszó G protein $\beta 3$ alegységet kódoló gén egyik funkcionális SNP-jét, a 825-s nukleotidot érintő C→T tranzíció hordozását is elemezzük; a T allél hordozásról igazolt, hogy kockázati tényező felnőtteknél a magas vérnyomás kialakulása szempontjából, illetve, hogy ez az SNP befolyásolja a RAS-gátlás hatékonyságát [111].

1.4.4. Közös elem a perinatális szövödmények pathomechanizmusában: megváltozott endokrin környezet. A növekedési faktorok jelentősége

In utero a magzat egy olyan környezetben fejlődik, mely (optimális esetben) az összes, számára szükséges tápanyagot, növekedési faktorokat, hormonokat a megfelelő arányban tartalmazza [112]. A megszületést követően ez a környezet megszűnik. Az újszülöttnak saját magának kell gondoskodni arról, hogy a táplálékból (anyatejből) felvegye a számára szükséges anyagokat, illetve át kell hangolja endokrin rendszerét úgy, hogy az megfeleljen a külső környezetnek. A postnatalis változás a növekedési faktorok szintjét alapvetően érinti, a hypoxia-indukált faktorok (pl. VEGF) termelése megváltozott (emelkedett) oxigénszintek mellett az újszülöttben csökken, a föto-materno-placentáris egység megszűnése miatt pedig az ösztrogén szintje is néhány napon belül kevesebb, mint századrészára csökken.

Az endokrin környezet megváltozása a koraszülöttek számára még kifejezettebb stresszt jelenthet. Ráadásul egy olyan fejlettségi szakaszban, amikor fiziológiásan, az optimális fejlődés érdekében továbbra is az *in utero* hormonszintekre lenne szükségük. Ezért indokolt feltételezni, hogy koraszülötteknél befolyásolhatja a postnatalis adaptáció sikerét az, hogy az adott gyermeknek mekkora a reziduális (endogén) növekedési faktor termelő képessége és/vagy mennyire érzékeny ezek hatásaira.

Munkánk során ezért vizsgáltuk azt, hogy néhány olyan funkcionális SNP hordozása, mely a VEGF termelését, illetve az ösztrogén és az IGF hatásáért felelős receptorok működését befolyásolja, összefügg-e a perinatális szövödményekkel [III, V, VI. mellékletek].

1.4.4.1. Vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF)

A VEGF-et az erek permeabilitást fokozó faktorként írták le [113]. Ezt a hatását különböző mechanizmusok révén fejt ki. A VEGF angiogenezist szabályozó hatásainak fontos szerepet tulajdonítanak mind az embrionális fejlődésben, mind a postnatalis életben. A magzati erek fejlődésében, így többek közt a szív fejlődésében központi szerepe van a VEGF-nek [114].

A VEGF sejtek túlélését elősegítő hatását elsőként a retina endothelsejtjein, később más sejteken is igazolták. Számos mechanizmuson keresztül befolyásolja a NO, illetve a PGI₂ szintézisét, illetve azok endothelsejtekből való felszabadulását, egyúttal az NO és a PGI₂ a VEGF számos biológiai hatását is közvetíti. A VEGF expressziójának szabályozásában döntő szerepe a hypoxiának van; az oxigéntenzió csökkenése a VEGF szintézisének gyors, reverzibilis fokozódásához vezet.

Számos citokinről, növekedési faktorról, így az IL-1 β , az IL-6 és az IGF-1-ről is bebizonyították, hogy fokozzák a VEGF szintézisét. Ezekben a hatásokban – munkacsoportunk megfigyelése alapján – posttranslatios mechanizmusok is szerepet játszhatnak [115].

A VEGF általunk vizsgált genetikai polymorphismusai

A humán VEGF gén igen polimorf, a variánsok közül mi munkánk során 3 külön SNP-t határoztunk meg [V, XXII és XXIV melléklet]; ebből kettő, a promoter szakaszon a -2578-as helyen lévő C→A, valamint a -460-as helyen lévő T→C tranzíció hatására a VEGF szint változik. A VEGF G⁺⁴⁰⁵C SNP is befolyásolja a VEGF-termelést (az alkalmazott stimulustól függően növeli, vagy csökkenti) [116].

A VEGF SNP-ket vizsgálataink elkezdésének időpontjában koraszülöttekben még nem vizsgálták. Egy másik vizsgálatunkban, melybe érett, de szívfejlődési rendellenességben szenvedő újszülötteket vontunk be, a VEGF ⁺⁴⁰⁵C allél hordozása fokozta az endokardiális párna fejlődési zavarával kapcsolatos szívfejlődési zavarok kockázatát [117].

1.4.4.2. Ösztrogén és receptorai

Az ösztrogénszintézis előanyagai az anyai és a magzati mellékvesében is termelődnek. A placentában szintetizálódó ösztrogének elsőként az anyai keringésbe jutnak, majd innen kerülnek a magzatba. A terhesség vége felé az ösztrogén koncentrációja mintegy százszorosa a terhesség előtt mért értékeknek.

Az ösztrogének nemi szervekre kifejtett hatásaik mellett extragenitalis hatásokkal is rendelkeznek. Ezek közül a legfontosabbak a csontanyagcserére, az érfalakra, zsíryanycserére, endokrin rendszerre, immunrendszerre kifejtett hatások. Hatást gyakorolnak a szervek, szövetek fejlődésére is. Nemcsak az anyában, hanem a fejlődő magzatban is, akiben alapvetően befolyásolhatják a magzat fejlődését [112]. A terhesség alatt az ösztriol a domináns ösztrogén (az összes ösztrogén 90%-a).

Újszülöttben az ösztrogének és a progeszteron szintje pár órán belül a magzati szint századrészére csökken. Igen kis súlyú koraszülöttekben a jelentős és idő előtti ösztrogén-szint csökkenés számos, a menopausát kísérő jellel analóg tünet és kórkép kialakulásához hozzájárulhat. Ezt a hipotézist Trotter és munkatársai klinikai körülmények között igazolták [118].

Az ösztrogének hatásukat részben intracelluláris receptorokon keresztül fejtik ki; ezzel komplexet képezve befolyásolják egyes transzkripciós faktorok DNS-hez való kötődését. A sejtekben dominánsan α típusú ösztrogén-receptorok ($ER\alpha$) vannak jelen [80].

Ösztrogénreceptorok általunk vizsgált génpolymorphismusa

Az $ER\alpha$ SNP-ékből a 2-es exon promoterét érinti a PvuII (a -397-es nukleotidot érintő $T \rightarrow C$ tranzíció). Erre az SNP-re tradicionálisan nem a nukleotid-csere, hanem a kimutatására használt restriktációs enzimek alapján hivatkoznak. „T” nukleotid (továbbiakban „P” allél) hordozása esetén a B-myb transzkripciós faktor kötőhelye eliminálódik és ez csökkent $ER\alpha$ expresszióval jár. A P allél hordozását kapcsolatba hozták olyan kórképekkel, melyek szempontjából az ösztrogénhiány kockázati tényezőt jelent [119].

1.4.4.3. Inzulinszerű növekedési faktor I és receptora

Az IGF-1 stimulálja a sejtek növekedését és osztódását, egyben hatékonyan gátolja a programozott sejthalált. Központi szerepet játszik a növekedésben és a szervek fejlődésében, valamint az angiogenesisben [120]. Ahhoz ugyanis, hogy a VEGF kifejthesse az érképződésre hatását, megfelelő IGF-1 szint szükséges. Elsősorban a májban termelődik, növekedési

hormon hatására. Hatását specifikus IGF receptorokhoz (IGFR-IR) kötve fejt ki, melyek számos sejten és szövetben vannak jelen.

A koraszülötteknél az anyai forrás megszűnésével az IGF-1 szintek gyors ütemben csökkennek [120]. Az IGF-1 szint csökkenésében szerepet játszik még az alultáplálás, acidosis, tiroxin-hiány és sepsis. A megszületést követően az IGF-1 szint lassan emelkedik. Hellstrom és mtsai kimutatták, hogy tartósan alacsony IGF-1 mellett rosszabb a retina vérellátása, fokozottabban termelődik VEGF és végül sokkal súlyosabb ROP-stádium alakul ki. Egyben azt is igazolták, hogy a perzisztáló alacsony IGF-1 mellett nemcsak a ROP, hanem egyéb súlyos szövödmények - BPD, IVH, és NEC – is gyakrabban fordulnak elő [121].

IGF1-R vizsgált genetikai polymorphismusa

A IGF – IGF1-R rendszert kódoló géneken jelen lévő SNP-k közül a leggyakrabban az IGF1-R G⁺³¹⁷⁴A SNP fordul elő, a hordozók gyakorisága közel 50%. Kimutatták, hogy A allél esetén az IGF-1 szintje csökken [122].

1.4.5. Sejtvédelem: a 70 kD-s hősokk fehérje

A HSP-k élettani és kóros állapotban egyaránt jelen vannak a sejtekben [123]. A HSP-k gátolják a denaturált fehérjék aggregációját, segítenek az újonnan szintetizált fehérjék harmadlagos térszerkezetének kialakításában, denaturálódott fehérjék esetében a szerkezet helyreállításában. A HSP70 család tagjainak aminosavsorrendje 90%-ban megegyezik, tulajdonságaik, funkcióik is nagymértékben hasonlóak. A HSP73 konstitutív módon, míg az indukálható forma, a HSP72 a sejtet ért károsító hatást (hypoxia, hyperoxia, gyulladás, fertőzés, toxikus károsodás) követően termelődik.

HSP70 gén általunk vizsgált SNP-i

A HSP70 SNP-k közül a legtöbb adat a HSP72 gén 1267. bázisát érintő A→G tranzícióra vonatkozik (¹²⁶⁷GG esetén csökken a HSP70 szint) [124]. Emellett sokan vizsgálják a HSP-73 gén -110. bázisát érintő A→C tranzíciót is, bár ennek funkcionális hatása nem egyértelmű.

A HSP72 A¹²⁶⁷G SNP hordozása számos esetben jelentősen befolyásolta az immunmediált kórfolyamatok kockázatát. Jelentőségét egy munkacsoport igazolta koraszülésben: Kalish és mtsai eredményei azt mutatták, hogy ikerterhességben az 'A' ikernél a ¹²⁶⁷G allél hordozás fokozza az idő előtti burokrepedés kockázatát [125].

A perinatális szövődmények és a genotípus közötti kapcsolat vizsgálatokor elemzett genetikai polymorphismusok típusait, helyét és feltételezett hatásait a 3. táblázat összegzi.

A fent bemutatott, a perinatális szövődmények kialakulását molekuláris szinten meghatározó elemek nem izoláltak, hanem bonyolult hálózatokban vannak jelen, kölcsönösen befolyásolva – gyengítve, vagy erősítve – egymás hatásait. Munkám kereteit meghaladná ezeknek a részletezése, azonban a 4. ábrán kísérletet teszek arra, hogy az általunk vizsgált gének termékei közötti összefüggést egy adott sejt, az aktivált makrofág szintjén és sejt környezetében szemléltessem. Bár ez az ábrázolás erősen leegyszerűsítő, úgy érzem, segíthet abban, hogy az egyes genetikai polymorphismusok potenciális hatásait összességükben lehessen értékelni.

Élettani jelentőség	Gén	Polimorfizmus helye és típusa	Kromoszóma	Variáns feltételezett hatása
gyulladás / citokin	TNF α	G ⁻³⁰⁸ A	6p21.3	TNF α \uparrow
		G ⁻²³⁸ A		
	IL-1 β	C ³⁹⁵⁴ T	2q14, 5.exon	IL-1 β \uparrow
	IL-12 p40	GC/CTCTAA	5q31-q32	heterozigóta: IL-12 \downarrow
	IFN γ	T ⁺⁸⁷⁴ A	12q14	IFN γ \uparrow
	IL-18	G ⁻¹³⁷ C	11q22.2-q22.3	IL-18 \downarrow
		C ⁻⁶⁰⁷ A		
	IL-6	G ⁻¹⁷⁴ C	7p21	IL-6 \downarrow
gyulladás / sejt felszíni receptor	IL-10	G ⁻¹⁰⁸² A	1q31-q32	IL-10 \downarrow
	IL-4-receptor α	A ¹⁹⁰² G	16p12.1-p11.2	IL-4-hatás \uparrow
	E-selectin	A ⁵⁶¹ C (Ser128Arg)	1q22-q25, 4-es exon	leukocita-endothel kölcsönhatás \uparrow
	P-selectin	A ²³⁶¹ C (Thr715Pro)	1q22-q25, 4-es exon, 13-as exon	solubilis P-selectin \downarrow
	L-selectin	C ⁷²⁵ T Pro213Ser	11p13, 6. exon	leukocita-endothel kölcsönhatás \downarrow
	CD14	C ⁻²⁶⁰ T	5q31.1	mCD14 expresszió \uparrow , gyulladás \uparrow

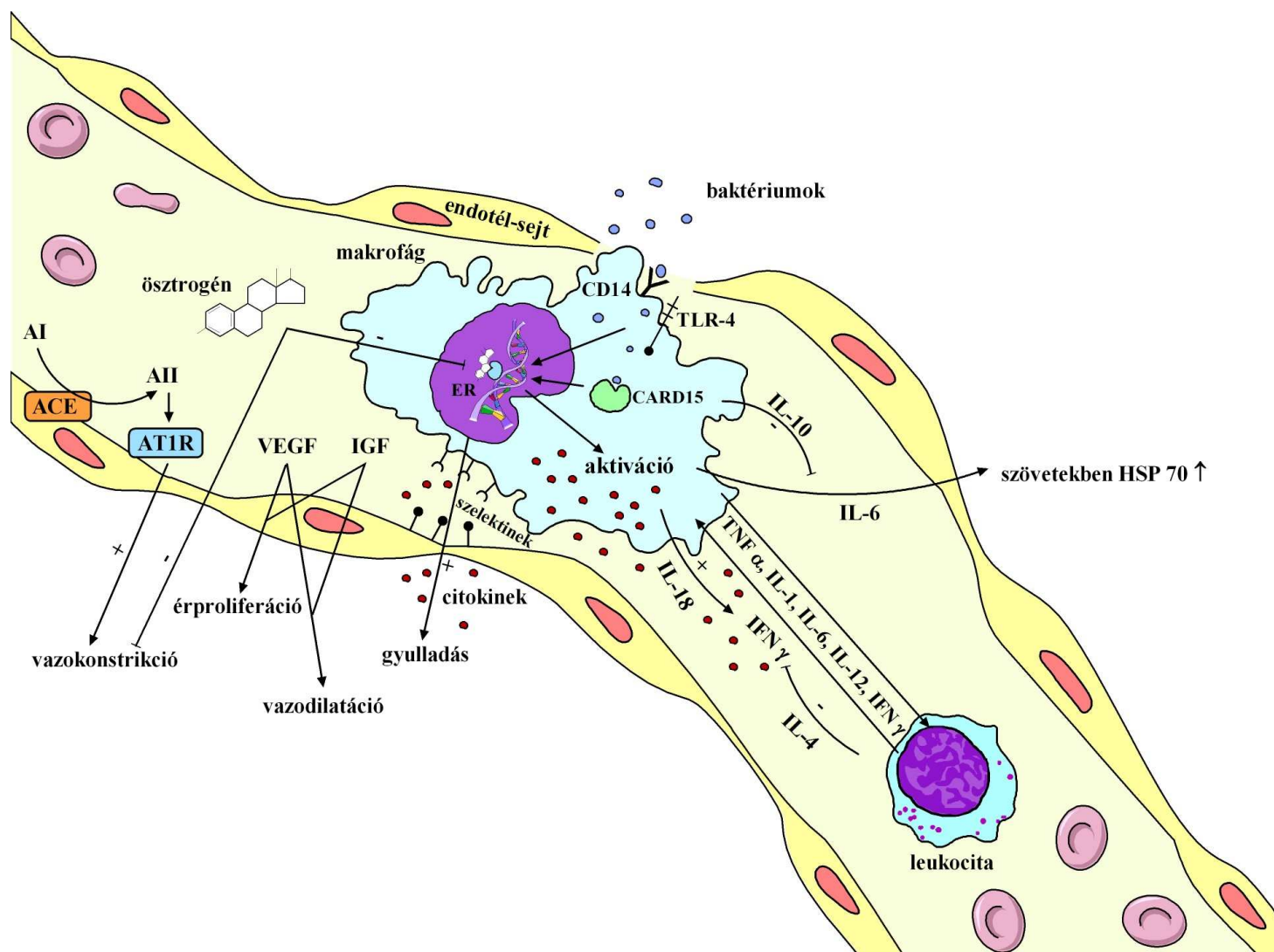
3. táblázat, 2/1. oldal. magyarázatot lsd. következő oldal

Élettani jelentőség	Gén	Polimorfizmus helye és típusa	Kromoszóma	Variáns feltételezett hatása
gyulladás / sejtfelszíni receptor	TLR 4	A ⁺⁸⁹⁶ G Asp→Gly, 299.pos	9q32-q33	<i>In vitro</i> NF-κB aktiváció ↓, <i>in vivo</i> légúti válasz LPS-inhalációra ↓
		C ⁺¹¹⁹⁶ T Thr→Ile, 399. pos		
gyulladás / intracelluláris receptor	CARD 15	G ⁺²⁷²² C (Gly→Arg 908. pos)	16q21	<i>In vitro</i> peptidoglikán szignalizáció ↓, NF-κB aktiváció ↓
		C ⁺²¹⁰⁴ T (Arg→Trp 702. pos)		
		3020 ins C (Leu→Pro stop codon)		
növekedési faktor	VEGF	C ⁻²⁵⁷⁸ A	6p12	VEGF ↓
		G ⁺⁴⁰⁵ C		VEGF ↓
		T ⁻⁴⁶⁰ C		VEGF ↑
	Ang2*	G ⁻³⁵ C	8p23.1	nincs adat
	ER- α	PvuII Pp (T ⁻³⁹⁷ C)	6q25.1	E2 hatás ↑
	IGF1-R	G ⁺³¹⁷⁴ A	15q25-26	IGF-1-szint ↓
sejtvédelem	HSP72	A ¹²⁶⁷ G	6p21.3	HSP70 ↓
	HSP73	G ¹⁹⁰ C		
vazoreguláció	ACE	Insertio / deletio	17q23.3	ACE-szint ↑
	AT1R	A ¹¹⁶⁶ C	3q21-q25	Ang II hatás ↑
	eNOS*	T ⁻⁷⁸⁶ C	7q36	NO-termelés ↓
	eNOS*	27bp repeat	7q36	'b' allél: NO ↑
	G-protein β-3	C ⁸²⁵ T	12p13	vérnyomás ↑

* részleteiben lsd. a ROP-os betegeknél

2. táblázat A perinatális szövődmények és a genotípus közötti kapcsolat vizsgálatok elemzett genetikai polymorphismusok típusának, helyének és feltételezett hatásának az összegzése.

↑ - emelkedik; ↓ - változik; ↓ - csökken. Rövidítéseket lsd. 4. oldal.



4. ábra. Veleszületett immunitás, vazoreguláció és endokrin környezet. Genotípus-fenotípus asszociációs vizsgálataink során elemzett gének termékei közötti kapcsolat a makrofágok, egyéb leukociták és endothelsejtek szintjén.

2. Célkitűzések

Kutatómunkánk során azt kívántuk vizsgálni, hogy a perinatális szövődmények és a születés utáni adaptációs zavarok kockázata alacsony születési súlyú koraszülöttek esetében összefügg-e, és ha igen, milyen mértékben olyan genetikai polymorphismusok hordozásával, melyek befolyásolhatják a szervezet

- gyulladásos válaszkészségét;
- vazoregulációját;
- endokrin környezetét.

Ezen belül külön elemeztük a kapcsolatot:

1. a perinatális adaptációs zavarok és a RAS, illetve az ösztrogén receptor;
2. az akut veseelégtelenség és a RAS, HSP70, illetve a citokinek;
3. a sepsis és a citokinek;
4. az enterocolitis necrotisans és a citokinek; valamint a bakteriális jelfelismerő receptorok;
5. a lélegeztetés / bronchopulmonaris dysplasia és a citokinek, illetve az adhézión molekulák;
- 6 a retinopathia és a VEGF, valamint az eNOS

kódoló gének funkcionális polymorphismusainak hordozása között.

Választ kerestünk arra a kérdésre is, hogy a beteg genotípusának ismerete mennyire segítheti a különböző szövődmények tekintetében veszélyeztetett betegek azonosítását; mely genetikai polymorphismus-mintázatokat kell meghatározni ahhoz, hogy már a megszületéskor az egyes szövődményeket előre lehessen jelezni.

3. Betegek és módszerek

3.1. Betegek

Vizsgálatsorozatunkat három nagyobb csoporton végeztük el:

3.1.1. Kissúlyú koraszülöttek

A Semmelweis Egyetem II. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati klinika újszülött intenzív osztályán, valamint az I.sz. Gyermekgyógyászati klinika perinatális intenzív osztályán az összesítő regiszter adatai alapján kiválogattuk azokat az 1996 és 2003 között kezelt koraszülöttek közül, akiknek a születési súlya legfeljebb 1500 gramm volt, és akiktől nagy valószínűséggel sor került anyagcsereszűrés érdekében vérvételre. (Az általános magyar gyakorlat szerint az ötödik életnapon, illetve koraszülöttek esetében az orális táplálás megkezdése után minden újszülöttről speciális szűrőpapírra vesznek vérmintát, aminek a felhasználásával a Budai Területi Gyermekkórházban működő Anyagcsereszűrő Központban (PKU laboratórium) anyagcserebetegségek irányában szűrik a gyermekeket). Ikerk esetében csak az 'A' ikert vontuk be a vizsgálatba.

Az általunk kiválogatott kissúlyú koraszülöttek ($n = 317$) esetében kértünk a PKU laboratóriumtól az anyagcsereszűrést követően megmaradt szárított vérmintát: maradék vérminta 266 gyermek esetében állt rendelkezésre. Náluk a kórlapok alapján részletes adatbázist állítottunk fel, melyben a főbb szövődmények (diagnosztikus kritériumokat lsd. 1.3 alatt) mellett a betegség decursusát is rögzítettük.

Az egyes vizsgálatokban nem minden beteg vett részt. Ennek oka az volt, hogy a vérminta mennyisége korlátozott volt.

A vizsgálatok során a genotípus-fenotípus közötti kapcsolat kereséséhez a diagnózisokat nemzetközileg elfogadott kritériumok alapján, a kezelés során állították fel. A betegek klinikai adatainak a feldolgozásakor a kórlapokban megjelölt diagnózisokat használtuk, illetve, az esetek egy részében, az alkalmazott terápiával definiáltuk a betegséget (ld. 4. táblázat). A betegek klinikai jellemzőit a 5. táblázat összesíti. További részleteket lsd. a témában megjelent és mellékelt közleményekben.

Szövédmény	Definíció
idiopathiás respirációs distress szindróma	surfactant-igény (legalább 1 adag surfactant alkalmazása)
keringési elégtelenség	katekolamin-adás (dopamin adása minimum 8 µg/ttkg/perc adagban) iránti igény
nyitott Botallo-vezeték	szívultrahangos kép (shunt a vezeték felett)
akut veseelégtelenség	Modi kritériumok [126]: 48. életóra után: szérum kreatinin > 120 µmol/l és/vagy a szérum karbamid >9 mmol/l; a diuresis <1,0 ml vizelet / ttkg/óra
enterocolitis necrotisans	Bell-féle stádiumbeosztás alapján [127]; markáns tünet: I. stádium: haspuffadás, véres széklet; II. stádium: intestinalis pneumatosis; III. stádium: bélperforáció.
kamraüri vérzés	jellegzetes radiológiai tünetek a koponya-ultrahangon
Sepsis	Dollner-kritériumok [128] közül legalább 3 jelen van + pozitív hemokultúra; vagy 4 kritérium van jelen
súlyos fertőzés	Dollner-kritériumok közül legfeljebb 2 kategória van jelen és a hemokultúra eredménye negatív
retinopathia	szemfenéki kép (I-V.st.). A retinopathiás csoportba csak a krio/lézerterápiával kezelt gyermekeket soroltuk.
bronchopulmonaris dysplasia	oxigénsupplementatio ideje (terhességi hét 32 ≤: legalább 28 nap; terhességi hét <32: a 36. posztmenstruációs héten oxigén támogatásra szorul a gyermek) [129]

4. táblázat. A diagnózisok felállításakor alkalmazott definíciók. Részletesen lsd. az I-XXV mellékletekben.

Betegek száma (Fiúk / lányok)	266 (135 / 131)
terhességi kor, hét (medián, [tartomány])	29,5 (26 – 34)
születési súly, gramm (medián, [tartomány])	1200 (640 – 1500)
ikerterhességből született	29
prenatalis szteroidkezelés volt	122
<u>Szövédmények</u>	
idiopathiás respirációs distress szindróma	130
keringési elégtelenség	57
nyitott Botallo-vezeték	62
akut veseelégtelenség	59
enterocolitis necrotisans	62
kamraüri vérzés	60
Sepsis	45
bronchopulmonaris dysplasia	39

5. táblázat A vizsgálatokban résztvevő koraszülöttek alap klinikai adatai További részleteket lsd. az I-XXV mellékletekben.

A mintagyűjtésnek ezt a módját és a vizsgálati protokollt az Intézeti Etikai Bizottság, majd, a jogszabályok változásával, a Semmelweis Egyetem Tudományos Kutatás Etikai Bizottsága is jóváhagyta (TUKEB engedély száma: 16/2003). Genotipizálás során a betegekhez kódszámot rendeltünk, az analízis és adatfeldolgozás a kódszám alapján, anonim módon történt.

3.1.2. Retinopathiás koraszülöttek

A Semmelweis Egyetem II.sz. Szemészeti Klinika munkatársai által 1996 és 2003 között ROP miatt lézeres / krioterápiás beavatkozással kezelt 130 koraszülött esetében kértük be a PKU-laboratóriumtól a szűrőpapírt (lsd. 6. táblázat). A beavatkozásra progresszív módon súlyosbodó (2^+), vagy annál súlyosabb stádiumú ROP miatt került sor a Schöpf-Mérei kórház, a Semmelweis Egyetem I. és II. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati klinika perinatális intenzív központjaiban. Közülük 115 gyermek esetében állt vizsgálataink számára rendelkezésre vérminta.

A betegek klinikai jellemzőit a 6. táblázat összesíti.

Betegek száma (fiúk / lányok)	130 (80/50)			
terhességi kor, hét (medián, [tartomány])	28 (24 – 34)			
születési súly, gramm (medián, [tartomány])	1110 (510 – 2000)			
ikerterhességből született	32			
prenatalis szteroidkezelés	65			
retinopathia miatt kezelt gyermeknél legsúlyosabb ROP-stádium	II ⁺	III	IV	V.
	50	61	9	10
<i>Retinopathiara hajlamosító perinatális szövődmények</i>				
respirációs distress szindróma	89			
kamraúri vérzés (st. \leq II)	42			
sepsis	35			
súlyos fertőzés	81			
oxigénadás időtartama, nap (közéérték, [tartomány])	17 (0 – 80)			
bronchopulmonaris dysplasia	46			

6. táblázat 2^+ -5. stádiumú retinopathiás, krioterapiával, vagy lézerrel kezelt koraszülöttek klinikai adatai. Részletesen lsd. a XXII-XXV melléletekben.

3.1.3. Egészséges újszülöttek

Ebbe a csoportba a Semmelweis Egyetem II. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati klinika egészséges újszülött osztályára felvett gyermekek kerültek; véletlen beválogatással 245 olyan gyermeket (128 fiú, 117 lány) vontunk be, akiknek a születési súlya 2500 és 4000 gramm közötti volt (középérték: 3270 gramm), terhességi kora pedig 37 és 42 hét (középérték: 39,5 hét). Esetükben is az anyagcsereközpontból származó vérmintákat használtuk fel. A születési súly, terhességi kor és a nem mellett egyéb adatot nem rögzítettünk. Ezt a csoportot alkalmaztuk a vizsgálatok során egészséges kontrollként.

3.2. Módszerek

3.2.1. Genotipizálás

A mérésekhez az újszülöttek anyagcsere szűréséből visszamaradt, szűrőpapírra szárított vérmintákra használtuk. A DNS kivonását Chelex 100 (Chelex[®], BioRad, Germany) gyanta segítségével végeztük, vagy, ha ez nem biztosított a PCR reakció számára elég DNS-t, a minták hemoglobin-tartalmát [130] közvetlenül az amplifikálás előtt hővel denaturáltuk. Mindkét módszer során a DNS is fragmentálódik, ezért néhány száz bázispárnál hosszabb szakaszok amplifikálására az így kinyert DNS nem alkalmas.

A PCR reakció során a 7. táblázatban jelzett primerek és az itt feltüntetett kondíciók mellett elvégeztük az amplifikációt. Insertios/deletios, illetve allélspecifikus PCR esetében az amplifikált DNS-t közvetlenül, míg a vizsgált polymorphismusok többségét kitevő SNP-k esetén a megfelelő restrikciós endonukleázzal való kezelést (ld. 7. táblázat) követően agaróz gélen, etidium-bromid festéssel vizualizáltuk a terméket, megfelelő kontrollok és standardok mellett. A sikeres amplifikációk aránya (középérték, tartomány) az egyes polymorphismusok esetében 94% (87% - 97%) volt. Az amplifikálódó minták 88%-ában (79% - 95%) az amplifikáció a megadott vizsgálati protokoll mellett sikerült; ezt követően a fennmaradó hányad a magnézium-klorid koncentrációjának a változtatása, illetve a mintatérfogat módosítása után amplifikálódott.

Azok a gyermekek, akiknek a mintája ennek ellenére sem amplifikálódott (az egyes polymorphismusok esetében összesített arányuk 6% (3% – 13%)), a vizsgálatnak az adott polymorphismussal kapcsolatos szakaszából kimaradtak. Klinikai adataik semmilyen szempontból nem tértek el a vizsgálatban maradt populációtól.

Gén	Polymor- phismus helye és típusa	Primerek	Denatu- -ráció	Anneláció	Exten- -zió	Ciklusok száma	Restrik- -ciós enzim	Termék hossz
TNF α	G ⁻³⁰⁸ A	5'-ATC TGG AGG AAG CGG TAG TG-3'; 5'-AAT AGG TTT TGA GGG CCA TG-3'	10 s	55°C, 60 s	30 s	35	<i>Nco I</i>	G allél: 202 + 18, A allél: 220 bp
TNF α	G ⁻²³⁸ A	5'- ATC TGG AGG AAG CGG TAG TG- 3'; 5'- AGA AGA CCC CCC TCG GAA CC- 3'	10 s	55°C, 60 s	30 s	35	<i>Msp I</i>	G allél: 152, A allél: 132+20 bp
IL-1 β	C ³⁹⁵⁴ T	5'-ATC TGG AGG AAG CGG TAG TG-3'; 5'-AGA AGA CCC CCC TCG GAA CC-3'	90 s/30 s	55°C, 90 s/30 s	30 s	3/32	<i>TaqI</i>	T allél: 135 + 114, A allél _ 249 bp
IL-6	G ⁻¹⁷⁴ C	5'-GCC CCC ACC AGT GGC TAC C-3'; 5'-GCC TTG TAA CCA GCC TCT CCT-3'	60 s	60 s°C, 60 s	72°C, 60 s	30	<i>NlaIII</i>	G-allél: 302; C-allél: 134 + 111 + 57 bp
IL-10	G ⁻¹⁰⁸² A	5'-GTC AGT GTT CCT CCC AGT- 3'; 5'-TTA CCT ATC CCT ACT TCC TC-3'	30 s	55°C, 60 s	60 s	35	<i>Eae I</i>	A-allél: 275 + 20; G-allél: 295 bp
IL-12 p40	GC/CTC TAA	5'-TGT TCT AAT GTG GGG GCC ACG-3';5'-CTG TTT GTC AGC AGA CCT TCC T-3'	20 s	55°C, 60 s	30 s	40	<i>Tai I</i>	GC: 223; CTCTAA- allél: 205 + 22 bp
IFN γ	T ⁺⁸⁷⁴ A	5'-TTC TTA CAA CAC AAA ATC AAG TC-3';5'-AGT ATT CCC AAA AGG CTT ATG T-3'	20 s	50 s°C, 60 s	30 s	40	<i>Alw26</i>	T allél: 366; A allél: 340 + 26 bp
IL-18	G ⁻¹³⁷ C	közös reverz primer 5'-AGG- AGGGCAAATGCACTGG-3'; forward primerek 5'-CCC- CAACTTTTACGGAAGAAAAG-3' és 5'-CCCCAACTTTTACGGAAG- AAAAC-3'	20 s	68 °C, 60 s, 5 ciklus; 62 °C, 20 s, 40 s ciklus	40 s	45	<i>Allél- specifik us touch- down PCR</i>	C allél: 261 bp; 446 bp belső kontroll

7. táblázat. A vizgálatssorozatunkban alkalmazott PCR-mérések protokollja 5/1. oldal

Gén	Polymor- phismus helye és típusa	Primerek	Denatu- -ráció	Anneláció	Exten- -zió	Ciklusok száma	Restrik- -ciós enzim	Termék hossz
IL-18	C ⁶⁰⁷ A	közös reverz primer 5'- TAACCTCATTCAGGACTTCC-3'; forward primerek 5'- GTTGCAGAAAGTGTA AAAATT ATTAC-3', 5'-GTTGCAGAAAGT- GTAAAAATTATTAA-3'.	20 s	68 °C, 60 s, 5 ciklus; 62 °C, 20 s, 40 s ciklus	40 s	45	<i>Allél- specifik us touch- down PCR</i>	A allél: 196 bp; 301 bp belső kontroll.
IL4RA	A ¹⁹⁰² G	5'-GCC CCC ACC AGT GGC TAC C-3'; 5'-GCC TTG TAA CCA GCC TCT CCT-3'	30 s	55 °C, 30 s	60 s	40	<i>Msp I</i>	A allél: 107+16; G allél: 89+18+16
E-selectin	A ⁵⁶¹ C Ser ¹²⁸ Arg	5'-AGA AAG AGG CAA GAA CCA GAC T -3'; 5'-AAA GGC ACT CAG TAT AAG CAC A-3'	30 s	58 °C, 45 s	45	40	<i>Pst I</i>	Ser: 109+84; Arg: 193 bp
P-selectin	A ²³⁶¹ C Thr ⁷¹⁵ Pro	5'-GGT TGC TGT TCT CAA AGT GAT TTT GGG AGA A-3'; 5'-CCT GAA GAC TGG AGA GTG AGT TAA ATG CT-3'	15s	60 s°C, 30 s	30 s	40	<i>BstE II</i>	Thr: 256; Pro: 129 + 127 bp
L-selectin	C ⁷²⁵ T Pro ²¹³ Ser	5'-AAAGGCACATGGTTA TCAAG-3', 5'- CACAGGTGGTTTCTTCA ATC-3'	15s	55 °C, 30 s	30 s	40	<i>Hph I</i>	Pro: 131 + 99; Ser: 230 bp
CD14	C ²⁶⁰ T	5'-ATCATCCTTTTCCCACACC- 3'; 5'-AACTCTTCGGCTGCCTCT- 3'	30 s	58 °C, 60 s	60 s	40	<i>HaeIII</i>	C allél: 155+140 T allél: 295
TLR 4	A ⁺⁸⁹⁶ G	5'- GATTAGCATACTTAGACTACTA CCT-CCATG-3'; 5'- GATCAACTTCTGA- AAAAGCATTCCCAC-3'	30	56 °C, 60	60	40	<i>NcoI</i>	A allél: 249; G allél: 226+23

7. táblázat. A vizsgálatsorozatunkban alkalmazott PCR-mérések protokollja 5/2. oldal

Gén	Polymor- phismus helye és típusa	Primerek	Denatu- -ráció	Anneláció	Exten- -zió	Ciklusok száma	Restrik- -ciós enzim	Termék hossz
-----	---	----------	-------------------	-----------	----------------	-------------------	----------------------------	-----------------

TLR4	C ⁺¹¹⁹⁶ T	5'- GGTTGCTGTTCTCAAAGTGATT TTG-GGAGAA-3'; 5'- CCTGAAGACTG- GAGAGTGAGTTAAATGCT-3'	30	56 °C, 60	60	40	<i>HinfI</i>	C allél: 406; T allél: 377+29
CARD 15	G ⁺²⁷²² C	5'- CTTTTGGCCTTTTCAGATTCT-3'; R:5'-GGGCACCCACTACCAATG- 3'	30 s	55 °C, 60 s	60 s	40	<i>HhaI</i>	G allél: 395 C allél: 373+22
	C ⁺²¹⁰⁴ T	5'- TGCAGCTGGCGGGATGGAGT- 3'; 5'- GCCGAGCCGCACAACCTTCA-3'	30 s	62 °C, 60 s	60 s	40	<i>MspI</i>	C allél: 72+54+56; T allél: 126+56
	3020 ins C	5'-GGC AGA AGC CCT CCT GCAGGGCC-3' R: 5'-CCT CAA AAT TCT GCC ATT CC-3'	30 s	58°C, 60 s	60 s	40	<i>ApaI</i>	vad allél: 151; insC: 131+20
IGF-R	G ⁺³¹⁷⁴ A	5'-CAG GGG TCG TTT GGG ATGGTC-3', 5'-CCT GTG CTG CAT TTT GGC TTT TC-3'	20	56 °C, 20 s	30	40	<i>MnII</i>	G: 120 +84+20; A: 123 +84 bp
ER α	PvuII, Pp	5'- CAG GGT TAT GTG GCA ATG AC 3'; 5' TAC CTA TAA AAA TGA CAA AAT GAA AT-3'	15	50 °C, 15 s	30	40	<i>PvuII</i>	PvuII: vad: 155 + 100,mutáns: 255;
VEGF	C ⁻²⁵⁷⁸ A	5'-GGG CCT TAG GAC ACC ATA CC-3', 5'-TGC CCC AGG GAA CAA AGT-3'	20 s	57 °C, 30 s	30s	40	<i>Bgl II</i>	C allél: 267; A allél: 208 + 59 bp
	G ⁺⁴⁰⁵ C	5'-CCG ACG GCT TGG GGA GAT TG-3', 5'-CGG CGG TCA CCC CCA AAA G-3'	20 s	60 °C, 30 s	30s	40	<i>BsmF I</i>	G allél: 197; C allél: 71 + 26

7. táblázat. A vizsgálatsorozatunkban alkalmazott PCR-mérések protokollja 5/3. oldal

Gén	Polymor- phismus helye és típusa	Primerek	Denatu- -ráció	Anneláció	Exten- -zió	Cikluso k száma	Restrik- -ciós enzim	Termék hossz
VEGF	T ⁻⁴⁶⁰ C	primerek: 5'-AGA CGG CAG TCA CTA G-3'; 5'-AAT ATT GAA GGG GG CAG-3' próbák: 5'LC640-AGC GGG GAG AAG GCC AGG G-3'; 5'-TGT GGG GTT GAG GGC GTT-3' fluorescein	<i>Real time PCR- FRET technika:</i> 20 µl [10% LC FastStart DNA Master hybridization Probe, +2mM MgCl ₂ , 0,5 nM mindkét primer, 0,17nM mindkét próba] reakció elegyben, 2 µl DNS. 8 min 95°C / 42-55 ciklus: 95°C, 2 s, 55 °C, 5 s, 72°C, 15 s. Olvadáspont analízis: 95 °C 10 s, majd 40°C, 15 s, majd 85 °C. Hűtés/fűtés sebessége: 20 °C/s					
Ang2	G ⁻³⁵ C	5'-GAC CGT GAA AGC TGC TCT GTA AAA GC-3, 5'-TCA GTA ATA AAC CAG CAG CTG AGC AAG-3'	20 s	60 °C, 20 s	30s	40	<i>Hind III</i>	G allél: 241 + 27 bp; C allél: 268
HSP72	A ¹²⁶⁷ G	5'-ACC CTG GAG CCC GTG GAG AA-3'; 5'-CAC CCG CCC GCC CCG TAG G -3'	20	61 °C, 60s	60	35	<i>Pst I</i>	A: 189; G: 116 + 73
HSP 70-3	G ¹⁹⁰ C	5'-CGA CCT GGG CAC CAC CTA CTC C-3' 5'-AAT CAG GCG CTT CGC GTC AAA C-3'	20	61 °C, 60s	60	38	<i>BsrB I</i>	G: 196; C: 118 + 78
ACE	Insertio / deletio	5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3'; 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3'; 5'-TCG AGA CCA TCC CGG CTA AAA C-3'	30 s	64 °C, 60s	30 s	35	<i>Allél- specifi- kus PCR</i>	I allél: 478, D allél: 191 bp
AT1R	A ¹¹⁶⁶ C	5'-ATA ATG TAA GCT CAT CCA CCA AGA AG-3'; 5'-TCT CCT TCA ATT CTG AAA AGT ACT TAA-3'	30 s	50 °C, 60s	30 s	35	<i>Afl-II</i>	A allél: 166; C allél: 139 + 27 bp

7. táblázat. A vizsgálatsorozatunkban alkalmazott PCR-mérések protokollja 5/4. oldal

Gén	Polymor- phismus helye és típusa	Primerek	Denatu- ráció	Anneláció	Exten- zió	Cikluso k száma	Restrik- ciós enzim	Termék hossz
eNOS	T ⁻⁷⁸⁶ C	Forward primer T: 5'-CAT CAA GCT CTT CCC TGT CT-3'; Reverz primer T ₀ : 5'-AGG CCC AGC AAG GAT GTA GT-3'; Forward primer C: 5'-GGC AGA GGC AGG GTC AGA CG-3'; Reverz primer C ₀ : 5'-TTT CTC CAG CCC CTC AGA TG-3'	30	60 °C, 60s	30	40	<i>Allél-specifi- kus PCR</i>	C allél: 176 + 387; T allél: 250 + 387 bp
	27bp repeat	5'-TGG GGG AGA TCC TTG CCT TTT C -3'; 5'- TGA GGG GCT GCA CTG GAC TGG -3'	30	60 °C, 60s	30	40	<i>Allél-specifi- kus PCR</i>	'a' allél: 380; 'b' allél: 407 bp
G-protein β-3 alegység	C ⁸²⁵ T	5'-TGA CCC ACT TGC CAC CCG TGC-3'; 5'-GAC GCA CCA GGG CTG GC -3'	60	60 °C, 45s	60	35	<i>BseDI</i>	C: 116 + 152; T: 268 bp

7. táblázat. A vizsgálatsorozatunkban alkalmazott PCR-mérések protokollja. A módszerekre vonatkozóan további információt a mellékelt közlemények tartalmaznak.

3.2.2. Statisztikai módszerek

A koraszülöttek – így az általunk vizsgált betegek is – rendkívül heterogén populációt alkotnak; érettségük, születési súlyuk, a jelentkező szövődmények és a terápia egyénenként nagymértékben változó. Mivel homogén betegcsoportok kialakításához egyrészt elérhetetlenül nagy betegszám kellene, másrészt az ezeken kapott eredmények sem lennének informatívak az általános klinikai gyakorlat során ellátott betegekre, nem törekedtünk csak „beteg” és csak „egészséges” koraszülött-alcsoportok definiálására. Ehelyett a vizsgálatban résztvevő koraszülötteket két csoportra osztottuk: szövődményes és az adott szövődményben nem szenvedő betegekre.

A két csoport esetében a genotípus-eloszlást (beleértve a Hardy-Weinberg kritériumok teljesülését), a kategórikus adatokat (allélfrekvencia, rizikófaktorok) χ^2 -próbával vagy Fisher-egzakt teszttel hasonlítottuk össze. Az I. fajú hiba csökkentése érdekében az allél-konstellációk vizsgálatakor Holm-féle poszt hoc tesztet alkalmaztunk.

A szövődmények multifaktoriális eredetűek, így a két csoport közvetlen összehasonlítása csak durva megközelítést ad a genotípus és a szövődmény közötti kapcsolatra vonatkozóan. Ezért vizsgálataink többségében logisztikus regresszióanalízist is alkalmaztunk; a genotípus-fenotípus közötti kapcsolatot a terhességi korra, az adott szövődmény szempontjából ismert rizikófaktorokra és/vagy az alkalmazott terápiára korrigáltuk. (A regresszió-elemzés során figyelembe vett kockázati tényezőket az eredmények részben részletezem.)

Az egyes szövődmények esetében előzetes power-analízisra az irodalmi adatok hiánya miatt nem volt lehetőség. A koraszülöttek és egészséges kontrollok esetében mért / közölt allélfrekvenciák esetében post-hoc határoztuk meg az összehasonlítás powerét ((1-másodfajú hiba)*100), ezt a 16. táblázat összegzi.

A fentiekén túl a meghatározott genetikai mintázat egyes szövődmények vonatkozásában mutatott predikciós értékét is elemeztük random forest technikával; ennek lényegét az 6. rész ismerteti.

4. Eredmények és megbeszélésük

Vizsgálatsorozatunk kapcsán 32 különböző genetikai polymorphismus összefüggését vizsgáltuk az egyes perinatális szövődményekkel. Az alábbi részben a bemutatott összesítő táblázatokban csak legfontosabb megfigyeléseinket emelem ki és tárgyalom.

Eredményeinkről 26 nemzetközi közleményben számoltunk be, melyeket az értekezés végén lévő mellékletek tartalmaznak. Ezek részletezik a vizsgált populáció klinikai adatait (pl. koraszülöttség, szövődményre hajlamosító egyéb állapotok stb.) is.

Az eredményeket három szinten értékelem:

1. közvetlen kapcsolat a perinatális szövődmények és a genotípus között;
2. a genotípus értékelése a perinatális szövődmények közti interakció szintjén;
3. genotípus-mintázat prediktív értéke a perinatális szövődményekre.

A közlemények többsége 3 éven belül jelent meg, ezek irodalmi hivatkozása nem elavult. Az alábbi, eredmények ismertetését és megbeszélését tartalmazó részben a mellékelt közleményben bemutatott referenciák összességét nem ismételtem, csak a különösen releváns publikációkat idézem.

4.1. Közvetlen kapcsolat a perinatális szövődmény és a genotípus között

4.1.1. Perinatális adaptáció

4.1.1.1. Eredmények

Az első életnapok során bekövetkező szövődmények esetében eredményeink azt mutatták, hogy a vizsgált polymorphismusok közül az IFN γ T⁺⁸⁷⁴A; az AT1R A¹¹⁶⁶C és az ACE I/D, valamint fiúknál az ER α PvuII polymorphismusok hordozása befolyásolja a perinatális adaptációs zavarok kockázatát.

RAS polymorphismus vizsgálatok (I és II. melléklet)

Keringési elégtelenségben szenvedő koraszülötteknél a légzési distressz szindróma, a sepsis és az ACE enzim I allél hordozás (azaz az ACE ID, vagy II genotípus) gyakrabban fordult elő, míg az intrauterin növekedési retardáció, illetve ACE DD genotípus ritkábban volt jelen. Miután az összefüggéseket a keringési elégtelenség kockázati tényezőire korrigáltuk, a

terhességi kor ($p < 0,01$) és az ACE I allél hordozó állapot független kockázati tényezőnek bizonyult (utóbbi esetében az OR [95% CI]: 3,86 [1,02-13,42]).

	Szövődményben NEM szenvedő koraszülöttek (VV / VM / MM %, [allélprevalencia])	Szövődményben szenvedő koraszülöttek (VV / VM / MM %, [allélprevalencia])	Melléklet száma
<i>Respiratorikus distress</i>			
IFN γ T ⁺⁸⁷⁴ A	23 / 55 / 22 (0,49)*	14 / 53 / 33 (0,59)	XX.
HSP72 A ¹²⁶⁷ G	7 / 75 / 18 (0,56)*	7 / 57 / 36 (0,64)	XII.
<i>Nyitott Botallo-vezeték</i>			
AT1R A ¹¹⁶⁶ C	59 / 28 / 13 (0,27)*	64 / 36 / 00 (0,18)	II.
ER α PvuII Pp (fiúokban)	33 / 39 / 28 (0,47)*	13 / 48 / 39 (0,63)	III.
IFN γ T ⁺⁸⁷⁴ A	10 / 52 / 38 (0,64)*	24 / 56 / 20 (0,48)	XX.
<i>Shock</i>			
ACE D / I	18 / 79 / 3 (0,42)*	46 / 46 / 8 (0,31)	I.
IFN γ T ⁺⁸⁷⁴ A	16 / 48 / 36 (0,61)*	21 / 56 / 23 (0,51)	XX.
<i>Intraventricularis vérzés</i>			
ER α PvuII Pp (fiúokban)	21 / 40 / 39 (0,59)*	35 / 46 / 19 (0,42)	III.

* $p < 0,05$. Logisztikus regressziós elemzés eredményeit lsd. szövegben

9. táblázat. Perinatális adaptációs zavarok kockázatával összefüggő genotípusok megoszlása. Rövidítéseket lsd. 4. oldal. Klinikai adatokat, betegszámot a mellékletek tartalmaznak.

A keringési elégtelenségben szenvedő csoporttal szemben az PDA-s gyermekeknél az AT1R A¹¹⁶⁶C genotípus lényegesen eltért az ebben a szövődményben nem szenvedő koraszülöttektől: PDA-ban egyik gyermeknél sem volt jelen a CC genotípus; szemben a spontán záródó Botallo-vezetékkel rendelkező csoporttal, melyben a CC genotípusú betegek aránya 13 százalék volt. Tehát egyetlen, CC genotípusú betegnél sem csúszott a Botallo-vezeték záródása az ötödik postnatalis nap utánra. A CC genotípusú betegek esetében a PDA-ra hajlamosító kockázati tényezők megoszlási gyakorisága nem különbözött az AC és az AA

genotípusú betegekhez viszonyítva. A logisztikus regressziós elemzés azt mutatta, hogy a PDA szempontjából a születési súly ($p < 0,01$), a respirációs distress szindróma (OR, 95%CI: 2,98 [1,05-8,42]), a keringési elégtelenség (3,85 [1,35 – 11,04]), illetve a CC¹¹⁶⁶ genotípus (0,067 [0,005-0,821] független kockázati tényező.

Ösztrogén receptor polymorphismus (III. melléklet)

Lányok esetében nem volt összefüggés a perinatális adaptációs zavarok kockázata és az ER α PvuII Pp polymorphismus hordozása között. Fiúkban az ER α PvuII polymorphismus „p” allélját hordozók között a PDA (OR [95% CI]: 0,24 [0,05-0,97]) előfordulása ritkább. Az IVH vonatkozásában viszont a „pp” genotípus fokozta a kockázatot (OR [95% CI]: 4,39 [1,15-16,82]), ugyancsak a fiú populációban. (Egyéb szövödmények – így a NEC kockázatát a pp-vel szemben inkább a PP genotípus fokozta – lsd. 4.1.4 rész.)

Citokin-gén polymorphismusok (XX. melléklet)

A citokinek közül csak az IFN γ polymorphismus hordozás esetében találtunk kapcsolatot a genotípus és a perinatális adaptációs zavarok között; az összefüggést a kockázati tényezőkre korrigálva logisztikus regresszióval kimutattuk, hogy az IFN γ ⁺⁸⁷⁴T allél karrier állapot véd a PDA-val szemben (korrigált OR, [95%CI], tartomány: 0,43 [0,19 - 0,97]), míg az A allélok jelenléte fokozza a keringési elégtelenség (3,40 [1,01-11,5]) és az IRDS (4,03 [1,30-12,5]) veszélyét.

4.1.1.2. Megbeszélés

A perinatális adaptációs zavarok szempontjából a koraszülöttség az egyértelműen meghatározó, de fenti eredményeink jelzik, hogy a kockázat összefügghet egyes polymorphismusokkal is.

RAS polymorphismusok (I-II.melléklet):

A perinatális szövödmények és a RAS (azaz ACE I/D és az AT1R A¹¹⁶⁶C) -genotípus közti kapcsolatra vonatkozóan csak kevés adat áll rendelkezésre. Nemrégiben egy nagyobb finn vizsgálat azt mutatta, hogy az ACE II genotípus hordozása mellett egészséges újszülötteknek nagyobb a születési súlya és néhány nappal később születnek meg, mint az ACE DD genotípusúak [131]. Ez az eredmény felveti, hogy az ACE genotípusa befolyásolhatja az intrauterin fejlődést. Vizsgálatunk során kis születési súlyú

koraszülötteknél mi nem tudtunk kapcsolatot kimutatni az ACE genotípusa és az intrauterin növekedési retardáció vagy a születési súly között (adatok a II. mellékletben).

Az irodalmi adatok alapján a mi vizsgálatunk a második, melynek célja az ACE I/D polymorphismus és a koraszülöttek cardiorespiratoricus adaptációja közti kapcsolat elemzése. Harding és mtsai. szerint a DD genotípus hordozása kedvezőtlen a koraszülöttek adaptációja szempontjából, DD genotípus mellett rosszabb az általános egészségi állapot [110]. Ezzel szemben eredményeink azt mutatják, hogy a DD genotípus keringési elégtelenséggel szemben védhet az első postnatalis hét során. Vizsgálatunk, illetve Harding és mtsai vizsgálata során kapott eredmények közti eltérést magyarázhatja, hogy mi kis születési súlyú koraszülötteket vizsgáltunk, akiknél nagyobb a cardiorespiratoricus adaptációs zavar kockázata – szemben Harding és mtsai-val, akiknek a vizsgálatában érettebb, átlagosan 1500 gramm születési súly felett született gyermekek vettek részt. Ezzel függhet össze, hogy vizsgálatunkban a keringési elégtelenség jóval gyakrabban fordult elő (nálunk 104 beteg közül 33-nál, míg Harding és mtsainál 148 betegből 25-nél, $p < 0,01$.) A betegek terhességi kora is magyarázhatja a két vizsgálat eredményei közti különbséget. Állatkísérletek alapján a RAS indukálhatósága a magzati érés során kifejezetten nő [132], azaz a nagyon éretlen koraszülötteknél az időre született újszülöttekhez viszonyítva a kedvezőtlen hemodinamikai változásokat a RAS kevésbé hatékonyan tudja ellensúlyozni.

Az ACE DD genotípus és a keringési elégtelenség csökkent kockázata közti kapcsolat háttérben lévő mechanizmust még tisztázni kell. Feltételezésünk szerint azonban – hasonlóan a felnőttekhez – a DD genotípusú koraszülötteknél nagyobb az ACE aktivitása, aminek az eredményeképp az AII termelés fokozódik. A keringő AII szint eredményeként a szisztémás keringés sokkal kiegyensúlyozottabb. Ezekben az újszülöttekben a RAS hatékonyabban tud reagálni a hemodinamikai változásokra, aminek az eredményeképp kis születési súlyú koraszülöttekben rövid távon javul a vazoreguláció*. A RAS fokozott aktivitása az újszülöttben a gyulladásos válaszreakciót is fokozhatja, ami miatt teoretikusan egyes perinatális szövődmények kockázata nőhet. Érdekes módon az ACE I/D-től eltérően a shockban szenvedő és nem szenvedő gyermekek AT1R A¹¹⁶⁶C genotípus-megoszlása nem különbözött szignifikánsan (adatokat lsd. II. melléklet), azaz ez az SNP a korai postnatalis időszakban valószínűleg nem befolyásolja a szisztémás vérnyomásszabályozást kis születési súlyú koraszülötteknél. Ez az eredmény eltér a felnőttekben kapott adatoktól [133].

* Azt, hogy hosszú távon ennek mi lehet az ára, lsd. 7.rész.

Feltehetően ennek a magyarázata az, hogy koraszülötteknél az AT1R szöveti expressziója más, mint idősebb korosztályban.

Ahol viszont a perinatális adaptáció során az AT1R genotípusnak jelentősége lehet, az a PDA. Eredményeink szerint az AT1R ¹¹⁶⁶CC genotípusú újszülöttekben kisebb a Botallo-vezeték nyitvamaradásának a kockázata az AT1R ¹¹⁶⁶AC, vagy AA genotípust hordozókhoz képest – tehát ez a genotípus védő hatású. Irodalmi adatok szerint az AII igen kifejezett vazokonstriktorként hat a pulmonáris erekben [134,135]. Az AII termelődését gátló ACE-inhibitorok felnőttekben pulmonáris hypotoniához vezethetnek [136]. Indirekt adatok szerint a RAS központi szerepet játszik a Botallo-vezeték záródásában is. Terhes nőkben az ACE gátlók adása újszülöttben a Botallo-vezeték záródásának a késését okozta [137].

Az AII hemodinamikai hatásait főként az AT1R-en keresztül fejti ki. Az AT1R ¹¹⁶⁶CC genotípusa esetén exogén AII hatására fokozott válaszreakciót írtak le [138]; így – bár nincs adat az AT1R genotípus pulmonáris érkonstrikció szabályozásában betöltött szerepére vonatkozóan – valószínűnek tűnik, hogy a stabilabb pulmonáris keringés révén vezethet ez a genotípus ahhoz, hogy csökkenjen a PDA kockázata.

A RAS elemeit érintő polymorphismusok esetében meg kell jegyezni azt, hogy a perinatális szövődmények szempontjából protektívnek talált ACE DD és AT1R ¹¹⁶⁶CC genotípusok hordozása hosszú távon kedvezőtlen lehet. Számos vizsgálat igazolta, hogy ezek a genotípusok felnőtt korban fokozzák a cardiovascularis betegségek veszélyét [139]. Az erre vonatkozó megfontolásokat a 7. rész összegzi.

Ösztrogén-receptor (III. melléklet)

Eredményeink jelzik, hogy az ösztrogén iránti egyedi érzékenységnak is szerepe lehet a perinatális adaptáció sikerében: fiúknál több szövődmény kockázata is összefüggött a genotípussal.

Koraszülés esetén az ösztrogénszintek idő előtti csökkenése hozzájárulhat a különféle perinatális szövődmények kialakulásához, mely részben az ösztrogénnek az immunfolyamatokra kifejtett hatásaival magyarázható [112]. Statisztikai adatok azt mutatják, hogy a fiú koraszülöttek mortalitása, morbiditása magasabb, mint a leány koraszülötteké [140]. Többen felvetették, hogy ennek hátterében az eltérő szexuálszteroid-szint állhat [141], azaz, hogy lányoknál már újszülött korban nagyobb a bazális ösztrogén-termelés, mint fiúknál. Vizsgálataink során feltételeztük, hogy nemcsak az ösztrogén szint csökkenése, hanem a (reziduálisan az újszülött szervezetében maradó) ösztrogén iránti érzékenység is hozzájárulhat a perinatális szövődményállapothoz. Ezért merült fel az ERα PvuII Pp SNP

vizsgálata, ami több irodalmi adat szerint eltérő (egyesek szerint fokozott [142,143], mások szerint csökkent [144,145]) ösztrogén érzékenységgel jár. A bizonytalanságok ellenére mégis ez az az SNP, amivel kapcsolatban felmerült, hogy az ösztrogén hatását befolyásolhatja, ezért mi is ezt vizsgáltuk.

Eredményeink alátámasztják feltételezésünket: összefüggést találtunk a genotípus és több adaptációs zavar között. Érdekes módon az összefüggések csak fiúkban voltak kimutathatók, lányoknál nem – ez arra utal, hogy az individuális, ösztrogén iránti érzékenység csak igen alacsony (csak koraszülött fiúkban kialakuló) ösztrogénszintek mellett befolyásolja a szövődmények veszélyét. Megfigyeléseink azt is jelzik, hogy a heterozigóta fiúk védettebbek a perinatális morbiditással szemben, mint akár a pp, akár a PP genotípusúak. (Az eddigi vizsgálatok eredménye alapján is a Pp genotípus az, ami mellett a legkiegyenlítettebb az ösztrogén hatása). Természetesen ez csak hipotézis, melyet funkcionális vizsgálatokkal kell igazolni.

Hősokk fehérje termelődése (XII. melléklet)

Vizsgálatainkban az IRDS-ben szenvedő koraszülöttek között gyakrabban fordult elő a HSP72 ¹²⁶⁷G allél hordozása. Irodalmi adatok alapján ismert, hogy a HSP72 fehérje fontos szerepet tölt be a foetalis tüdő érésében [146]. Bár a HSP72 surfactant termelésre kifejtett hatása nem ismert, ez az eredmény felveti annak a lehetőségét, hogy egyes koraszülöttekben a csökkent HSP72 expresszió is hozzájárul ahhoz, hogy a tüdő érési folyamatai károsodnak.

Gyulladásos válasz (XX. melléklet)

Érdekes eredmény, hogy az alacsony IFN γ szintekkel járó IFN γ ⁺⁸⁷⁴A allél hordozása mellett gyakoribbak voltak a perinatális adaptációs zavarok. A koraszülöttek szövődményeivel – különösen a BPD, NEC, PVL kialakulásával – szorosan összefügg a FIRS, aminek jele a proinflammatoricus citokinszintek markáns emelkedése [27]. Az is ismert, hogy a fokozott *in utero* IL-1 β és a TNF α befolyásolják a tüdőfejlődést [28]. FIRS esetén a magasabb intrauterin IL-1 szintek gyorsítják a pneumociták érését, ezért a FIRS miatt világra jövő gyermekek viszonylag védettek az IRDS-sel és valószínűleg egyéb, a perinatális adaptáció során jelentkező szövődménnyel szemben [147]. Mivel az IFN γ az IL-1-gyel és TNF α -val szinergista hatást fejt ki [35], ezért elképzelhető, hogy a genetikailag determinált kisebb IFN γ termelés mellett a FIRS-asszociált citokinek tüdőérést kifejtő hatása kevésbé tud érvényesülni. Ezt a teóriát nem támasztja alá az, hogy más gyulladásos citokinek genotípusa és perinatális adaptációs zavarok között nem tudtunk kapcsolatot kimutatni.

4.1.2. Sepsis

4.1.2.1. Eredmények

A szeptikus és súlyos fertőzésben szenvedő koraszülöttek esetében kiterjedten vizsgáltuk a gyulladás intenzitását alapvetően befolyásoló genetikai polymorphismusok előfordulási gyakoriságát (10. táblázat) (VIII. és XVII. melléklet). Nem találtunk különbséget az egyes csoportok között. A szeptikus csoportban nem tudtunk összefüggést kimutatni a génvariánsok és a hemokultúrából kitenyésztett mikroorganizmusok típusa között sem.

Az ARF kivételével nem találtunk kapcsolatot a sepsis szövődményei és a vizsgált polymorphismusok hordozása között sem: az ARF-fel kapcsolatos eredményeinket lsd. 4.1.3. részben.

Külön vizsgáltuk a genotípus-kombinációk és a szeptikus szövődmények közti kapcsolatot. Említésre méltó, hogy a 33 vizsgált szeptikus beteg közül 12 volt olyan, akinél az IL-1 β és az IL-10 gén mutáns allélja jelen volt; közülük 4-nél következett be disseminált intravasculáris coagulatio (DIC). Ezt az allél-konstellációt csak egy DIC-es betegnél nem lehetett kimutatni; hordozása a DIC szempontjából sepsisben 10-szeres kockázatot jelentett.

4.1.2.2. Megbeszélés

A veleszületett immunitás receptorainak működését befolyásoló SNP-k jelentőségét (XVII. melléklet) sepsisben rajtuk kívül Baier és mtsai [148], valamint Ahrens és mtsai [149] elemezték. Hasonlóan a mi eredményeinkhez, ők sem találtak összefüggést a TLR4⁺⁸⁹⁶G SNP hordozás és a sepsis között, viszont eredményeik arra utalnak, hogy a CARD15^{3020ins}C allél hordozás a hemokultúrával igazolt sepsis veszélyét emelheti. A mi vizsgálatunk ezt nem igazolta, lehet, hogy ennek az a magyarázata, hogy ennek az SNP-nek a prevalenciája vizsgált betegeinknél nagyon alacsony volt (azaz kicsi volt a statisztikai erő).

Korábbi vizsgálatok szerint az újszülöttek korai sepsise emelkedett citokin-szintekkel jár együtt [36]. A koraszülöttségtől függetlenül szeptikus újszülöttekben valamennyi mért citokin szintje magasabb volt egészséges, illetve olyan újszülöttekkel összehasonlítva, akiknél felmerült a sepsis lehetősége. Atici és mtsai magasabb szérumszintet mértek szeptikus újszülöttekben [37]. Egy másik vizsgálat szerint a köldökzsinór vér IL-6 koncentrációja igen érzékeny indikátora a koraszülöttek sepsis szindrómájának. A magasabb szérumszintek alapján a sepsis diagnózisát meg lehetett erősíteni, vagy ki lehetett zárni [150].

	Fertőzés NINCS (VV/VM/MM %, allél prevalencia]	Fertőzés VAN, sepsis NINCS (VV/VM/MM %, allél prevalencia)	Sepsis VAN (VV/VM/MM %, allélprevalencia)
<i>Citokinek</i>			
TNF α G ⁻³⁰⁸ A	80 / 20 / 0 (0,09)	80 / 20 / 0 (0,10)	76 / 24 / 0 (0,12)
TNF α G ⁻²³⁸ A	89 / 11 / 0 (0,06)	91 / 9 / 0 (0,04)	100 / 0 / 0 (0,000)
IL-1 β C ³⁹⁵⁴ T	60 / 34 / 6 (0,23)	57 / 37 / 6 (0,24)	67 / 27 / 6 (0,23)
IL-12 p40 GC/CTCTAA	32 / 42 / 26 (0,47)	15 / 50 / 35 (0,60)	15 / 53 / 32 (0,58)
IFN γ T ⁺⁸⁷⁴ A	25 / 45 / 30 (0,52)	17 / 58 / 25 (0,54)	20 / 50 / 30 (0,55)
IL-18 G ⁻¹³⁷ C	55 / 40 / 5 (0,25)	44 / 49 / 7 (0,31)	59 / 33 / 8 (0,24)
IL-18 C ⁻⁶⁰⁷ A	55 / 40 / 5 (0,25)	44 / 49 / 7 (0,31)	59 / 33 / 8 (0,24)
IL-6 G ⁻¹⁷⁴ C	54 / 43 / 3 (0,24)	43 / 40 / 17 (0,37)	55 / 39 / 6 (0,26)
IL-10 G ⁻¹⁰⁸² A	29 / 57 / 14 (0,43)	26 / 57 / 17 (0,46)	18 / 52 / 30 (0,56)
<i>Receptorok</i>			
IL-4R α A ¹⁹⁰² G	71 / 26 / 3 (0,16)	63 / 34 / 3 (0,20)	12 / 70 / 18 (0,23)
TLR4 A ⁺⁸⁹⁶ G	94 / 6 / 0 (0,027)	94 / 6 / 0 (0,03)	86 / 11 / 3 (0,09)
TLR4 C ⁺¹¹⁹⁶ T	95 / 5 / 0 (0,025)	95 / 5 / 0 (0,027)	90 / 10 / 0 (0,05)

10. táblázat. Korai sepsis és citokin-gén SNP-k Genotípusok százalékos megoszlása. Rövidítések: IFN – interferon; IL- interleukin; TLR – toll-like receptor, VV: homozigóta vad; VM: heterozigóta; MM: homozigóta mutáns genotípus. Klinikai adatokat, betegszámokat a VIII és a XVII. mellékletek tartalmazzák.

A citokinek szérumszintjében bekövetkező változások, legalábbis részben, genetikailag meghatározottak. Felnőttekben összefüggést találtak egyes fertőzőes megbetegedések kialakulása és kimenetele, valamint a TNF α polymorphismus hordozás között [151]. Koraszülöttekben és újszülöttekben is leírták, hogy az IL-6 ⁻¹⁷⁴GG genotípus fokozott sepsis-rizikóval járt együtt [152,153]; ezt vizsgálatunk azonban nem tudta megerősíteni. Viszont hozzánk hasonlóan Weitkamp és mtsai [153], illetve Schueller és mtsai [149,154] sem talált kapcsolatot a TNF genotípusa és a sepsis között a nagy kockázatú újszülöttekben, bár Hedberg és mtsai [155] szerint az AA genotípus mellett nő a halálozás. Az ellentmondásos eredmények jelzik, hogy a (többnyire kis esetszámú betegen tett) megfigyelések eredményei nem általánosíthatóak, különösen a vizsgált populációk nagyfokú heterogenitása miatt.

A vizsgált polymorphismusok között a TNF α , IL-1 β , IL-6 és az IL-10 allélek variánsai proinflammatoricus irányba tolják el a citokin-kaszád egyensúlyát; az IL-4 ra pedig az IL-4 antiinflammatoricus hatásait erősíti. Mivel a citokinek nem önmagukban, hanem komplex hálózat részeként hatnak, a szeptikus újszülöttek esetében a génvariánsok közötti lehetséges interakciók lehetőségét is megvizsgáltuk. Eredményeink szerint a vizsgált génvariánsok előfordulási gyakorisága szeptikus és nem-szeptikus újszülöttekben nem tér el egymástól. Emellett a vizsgált polymorphismusok együttes hordozása nem befolyásolta a fertőzés kialakulásának- vagy annak súlyosságának, illetve a máj-, szív- és a többszörös szervi elégtelenség felléptének valószínűségét.

Bár a DIC-ben szenvedő betegek igen kis száma miatt nem lehet következtetéseket levonni, mégis, érdekes, hogy az öt DIC-es betegből négyen hordozták a mutáns IL-1 β és IL-10 allélokat, melyekhez nagyobb IL-1 és kisebb IL-10 szintek társulnak. Ez összhangban van azokkal a közleményekkel, melyek az endotoxin kiváltotta sokkban és DIC-ben emelkedett a IL-1 [156] és csökkent az IL-10 szintet találtak [74,157]. A kapcsolat hátterében lévő mechanizmus nem tisztázott, érdemes lenne nagyobb betegcsoporton elemezni azt, hogy lehet-e prognosztikai értéke az IL-1 β és IL-10 genetikai variánsainak a sepsis talaján kialakuló DIC szempontjából.

4.1.3. Akut veseelégtelenség

4.1.3.1. Eredmények

Amikor logisztikus regressziós modell segítségével elemeztük a perinatális szövődmények és az ARF kockázata közötti összefüggést, független kockázati tényezőnek bizonyult az alacsony gesztációs kor ($p = 0,005$), a PDA ($p = 0,05$), a sepsis ($p = 0,001$), az alacsony 1 perces Apgar érték ($p < 0,05$) és az IRDS (3,62 [1,63-8,06]).

ARF-s koraszülötteken végzett genetikai polymorphismus-vizsgálataink eredményét összegzi a 11. táblázat.

	ARF-ben NEM szenvedő koraszülöttek (VV / VM / MM %, [allélprevalencia])	ARF-s koraszülöttek (VV / VM / MM %, [allélprevalencia])
<i>Vazoreguláció</i>		
ACE D / I	47 / 49 / 4 (0,29)	45 / 50 / 5 (0,30)
AT1R A ¹¹⁶⁶ C	62 / 29 / 9 (0,23)	55 / 40 / 5 (0,25)
<i>Növekedési hormon</i>		
VEGF C ⁻²⁵⁷⁸ A	29/42/29 (0,50)	24/66/10 (0,43)
<i>Sejtvédelem</i>		
HSP72 A ¹²⁶⁷ G	8 / 73 / 19 (0,56)	5 / 51 / 44 (0,69)*
HSP73 C ¹⁹⁰ G	73 / 24 / 3 (0,15)	68 / 32 / 0 (0,18)

* p < 0,05. Logisztikus regressziós elemzés eredményeit lsd. szövegben

11.a táblázat. Akut veseelégtelenség (ARF) és részletesebben vizsgált génpolymorphismusok. Rövidítések: lsd. 4. oldal. VV: homozigóta vad; VM: heterozigóta; MM: homozigóta mutáns genotípus. Klinikai adatokat, betegszámokat az V, IX, X mellékletek tartalmazzák.

Az ACE I/D, illetve AT1R A¹¹⁶⁶C genotípusok megoszlása a két csoport között nem különbözött [X. melléklet]. A VEGF termelését befolyásoló polymorphismusok közül a C⁻²⁵⁷⁸A SNP esetében találtunk összefüggést a szövődmény és az A allél hiánya között: az ARF-fel szemben az A allél hordozás védett (kockázati tényezőkre korrigált OR [95% CI]: 0,2 [0,05-0,78] [V. melléklet]).

A HSP72¹²⁶⁷GG genotípus gyakrabban fordult elő ARF-s betegekben, mint azokban a koraszülöttekben, akiknél nem alakult ki ez a szövődmény [XII. melléklet]. A HSP72¹²⁶⁷GG genotípus és az ARF kialakulása közötti összefüggés más hajlamosító rizikófaktoroktól (sepsis, PDA, NEC, shock és IRDS) függetlenül is szignifikáns maradt (p = 0,05). A HSP73 C¹⁹⁰G genotípus esetében nem volt kapcsolat az ARF-fel.

Adataink is alátámasztják, hogy az ARF-re hajlamosít a sepsis. Egy külön vizsgálat során azt elemeztük, hogy súlyos fertőzésben szenvedő koraszülötteknél összefügg-e a szövődmény kockázata egyes citokin-gén SNP-k hordozásával; eredményeinket a 11.b táblázat összesíti. Kimutattuk, hogy TNFα⁻³⁰⁸A és IL-6⁻¹⁷⁴C együttes hordozása több mint hatszorosára emeli az ARF kockázatát súlyos fertőzésben és sepsisben.

	ARF nincs a fertőzés mellett	Súlyos fertőzést kísérő ARF
<i>Gyulladásos citokinek</i>		
TNF α G ⁻³⁰⁸ A	81 / 19 / 00 (0,09)	57 / 30 / 13 (0,28)
IL-1 β C ³⁹⁵⁴ T	56 / 37 / 7 (0,26)	68 / 21 / 11 (0,21)
IL-6 G ⁻¹⁷⁴ C	52 / 39 / 9 (0,29)	50 / 39 / 11 (0,30)
IL-10 G ⁻¹⁰⁸² A	22 / 48 / 30 (0,54)	21 / 61 / 18 (0,49)
<i>Mutáns allélek együttes hordozása</i>		
TNF α 308 ³⁰⁸ A x IL-1 β ³⁹⁵⁴ T	5%	11%
TNF α 308 ³⁰⁸ A x IL-6 ⁻¹⁷⁴ C	6%	26%*
TNF α 308 ³⁰⁸ A x IL-10 ⁻¹⁰⁸² A	13%	34%
IL-1 β ³⁹⁵⁴ T x IL-6 ⁻¹⁷⁴ C	21%	21%
IL-1 β ³⁹⁵⁴ T x IL-10 ⁻¹⁰⁸² A	30%	18%
IL-10 ⁻¹⁰⁸² A x IL-6 ⁻¹⁷⁴ C	36%	36%

* OR [95% CI]: 6.1 [1.5 - 23.9]

11.b táblázat. Akut veseelégtelenség (ARF) gyulladásos citokin-gén SNP-k. Rövidítéseket lsd. 4. oldal; VV: homozigóta vad; VM: heterozigóta; MM: homozigóta mutáns genotípus. Klinikai adatokat, betegszámokat a XI. melléklet tartalmaz.

4.1.3.2. Megbeszélés

A renin-angiotenzin rendszer genetikai variánsai (X. melléklet)

A RAS a helyi vazoaktív mediátorokkal egyetemben meghatározó szerepet játszik koraszülötteknél a renális mikrocirkuláció szabályozásában [158]. Ezt alátámasztják azok az adatok is, melyek szerint ebben az életkorban a RAS aktivitása magas, illetve az ACE gátlása veseelégtelenség kialakulásához vezet. Bár olyan adatok nem állnak rendelkezésre, melyek szerint az ARF kialakulásában a RAS polymorphismusainak szerepe lenne, egyes eredmények mégis arra utalnak, hogy az AT1R SNP-i befolyásolhatják az AII renális hemodinamikára gyakorolt hatását, legalábbis felnőttekben [138].

Vizsgálatunkban az alacsony gesztációs kor az ARF független rizikófaktorának bizonyult, ami magyarázza a kórkép magas incidenciáját a vizsgált csoportban. Ugyancsak igazoltuk a csökkent renális perfusiohoz vezető egyéb állapotok, így az IRDS, az alacsony Apgar-érték és az anaemia szerepét az ARF kialakulásában. A RAS aktivitásának a

megváltozása részben felelős az IRDS és a hypoxia neonatális renális funkcióra kifejtett hatásaért [159,160]. Emellett a RAS nagy neonatális aktivitása fontos szerepet tölt be az újszülöttek glomeruláris funkcióinak fenntartásában [158]. Vizsgálatunkban ennek ellenére nem tudtunk összefüggést kimutatni az ACE I/D polymorphismusa, illetve az AT1R A¹¹⁶⁶C SNP, valamint az ARF között. Eredményeink alapján nem lehet megmondani, miért nincs összefüggés a perinatális veseműködés és a RAS polymorphismusok között. Valószínűnek tűnik azonban, hogy a RAS variánsok veseműködésre gyakorolt hatása elenyésző mértékű az élet első napjaiban a koraszülött veseműködésére kedvezőtlenül ható korai posztnatális változások hatásához képest.

Nem tudjuk megállapítani azt sem, hogy a RAS genetikailag meghatározott csökkent aktivitása miként befolyásolja a lokálisan a vesében ható vazóaktív anyagok, így pl. az endotelin, a vazopresszin vagy a bradikinin elválasztását. A vazodilatációt okozó faktorok termelődésében bekövetkező változás (például a csökkent angiotenzin konvertáz enzim aktivitás miatti csökkent bradikinin képződés) protektív mechanizmusként hathat.

Vascularis endothelialis növekedési faktor (V. melléklet)

Állatmodellekben igazolt, hogy a VEGF fontos szerepet játszik az ARF pathogenesisében [113]. Kimutatták azt is, hogy expressziója ischaemia-reperfusio inzultust követően emelkedik. Más állatmodellek szerint az exogén VEGF adása elősegíti az endothelialis sejtek proliferációját és stabilizálja a veseműködést; hatásának gátlása pedig proteinuriához vezet [161].

A VEGF jelentősége miatt elemeztük a VEGF genotípusok gyakoriságát ARF-ben és azt találtuk, hogy a ⁻²⁵⁷⁸AA jelenléte véd a szövődménnyel szemben. Ez az irodalmi adatokkal ellentétes eredmény, ugyanis a VEGF génnek ez a típusa (legalábbis felnőtt véradókon) csökkent VEGF szintézissel jár, tehát inkább fokoznia kellene a kockázatot [116]. Az ellentmondás akkor oldódna fel, ha koraszülötteken ezzel ellentétes hatást lehetne igazolni – azaz, hogy ez a genotípus emeli a VEGF szintet. Elméletileg ez sem kizárt: a jóval gyakrabban vizsgált VEGF T⁻⁴⁶⁰C és G⁺⁴⁰⁵C SNP-k vonatkozásában is kimutatták, hogy a stimulánstól függően az SNP hordozás fokozott, vagy ezzel ellentétes, csökkent VEGF-szintekkel járt. Az is elképzelhető az SNP-k hatása szövetfüggő módon változik. A VEGF genotípusa és az ARF közötti kapcsolat tisztázása érdekében ezeket a hipotéziseket vizsgálni kell.

70 kD-os hősokk fehérje (XII. melléklet)

Irodalmi adatok a HSP70 fehérjecsalád központi szerepét támasztották alá a magzati élet során. Igazolták, hogy a HSP-k a teljes főtális érés ideje alatt expresszálódnak és embrió-protektív hatással rendelkeznek.

Korábbi vizsgálatok azt is igazolták, hogy a HSP72 fontos szerepet tölt be az éretlen vese ischaemias toleranciájában [162]. Koraszülött állatmodellben összefüggést írtak le a HSP72 fehérje expresszió növekedése és a renalis hypoxiával szembeni védekezőképesség között [163,164]. Experimentális ARF-ben kimutatták, hogy a renalis ischaemia a HSP72 expresszió növekedését indukálta, továbbá, hogy a HSP72 alacsony szintje súlyosbította az ischaemias károsodást [165] és nehezítette a proximalis tubulusok ischaemiat követő regenerációját [166]. Habár korábbi eredmények igazolták a HSP72 és HSP73 genetikai polymorphismusok jelentőségét ischaemias agy, illetve szívbetegségekben [167], a vesét illetően mindeddig nem történtek ilyen vizsgálatok.

A fentiekkel összhangban eredményeink is azt jelzik, hogy a sejtvédelemben központi szerepet játszó HSP70 csökkent termelése hozzájárulhat az újszülöttkori ARF-hez: elsőként mutattuk ki, hogy az alacsony HSP70 szintekkel járó HSP72 ¹²⁶⁷GG genotípus hordozása összefügg az ARF kialakulásával kis súlyú koraszülöttekben.

Ugyanebben a vizsgálatban azt is kimutattuk, hogy a ¹²⁶⁷GG genotípus nemcsak ARF-ben, hanem magában a koraszülött populációban is gyakoribb. Ennek jelentőségéről a 7. részben lesz szó.

Citokin-génpolymorphismusok (XI. melléklet)

A sepsis fennállásakor a keringésbe jutó mediátorok, így a citokinek is jelentősen befolyásolják a vesefunkciót nem csak szisztémás, hanem helyi hatásaik révén is. A „vese-specifikus” gyulladásos citokin-válasz először a TNF α elválasztásával kezdődik, ezt az IL-1 β követi, majd ezután jelenik meg az antiinflammatoricus IL-6.

A citokin-génpolymorphismusok összefüggéseit vesebetegségekkel kapcsolatban idáig főként vesetranszplantációban tanulmányozták; ha a recipiensek a kisebb TNF α szinttel járó allélt hordozták, a prognózis sokkal jobb a fokozott TNF α termeléssel járó variánshoz képest [168,169]. Más adatok szerint a donor IL-6 ⁻¹⁷⁴CC genotípusa önmagában is kockázati tényezőt jelent a graft kilökődésére vonatkozóan. A recipiens-donor viszonylatban az IL-4 és az IL-10 genotípusoknak is szerepe lehet a transzplantáció kimenetelében [170].

A citokin genotípusok befolyásolják a vese gyulladásos folyamatának súlyosságát és a renális hipoperfúzió hosszú távú hatását. Mindkét mechanizmusnak szerepe van a sepsissel összefüggő ARF kialakulásában [49]. Bár egyes vizsgálatok szerint az immunológiailag aktív mediátorok fontos szerepet töltenek be a sepsisben kialakuló ARF patomechanizmusában, idáig nem álltak rendelkezésre arra vonatkozó adatok, hogy a TNF α , IL-1 β , IL-6 és az IL-10 gének SNP-i, melyek a pro- és antiinflammatoricus citokinek között fennálló egyensúlyt a proinflammatoricus oldal felé tolják el (lásd 2. ábra), befolyásolják-e az ARF kialakulását súlyos, szisztémás fertőzésben szenvedő kissúlyú koraszülötteknél.

Mivel a citokinek nem önmagukban fejtik ki hatásukat, hanem komplex hálózatot alkotnak, ezért egyszerre több citokin-gén SNP-t, illetve az egyes génvariánsok együttes hordozásának a jelentőségét is megvizsgáltuk ARF-ben. Eredményeink szerint a TNF α , IL-1 β , IL-6 és IL-10 allélek variánsainak a hordozása hasonló az ARF-es és a kontroll csoportban; tehát egyetlen vizsgált mutáns allél hordozása nem jelent kockázati tényezőt a súlyos fertőzésben szenvedő újszülöttek számára az ARF szempontjából. Ugyanakkor a magas TNF α -termeléssel és kis IL-6 termeléssel járó genotípusok előfordulása (ahol fokozott pro- és csökkent antiinflammatoricus citokin-termelő kapacitás alakul ki) gyakoribb volt azoknál az újszülötteknél, akiknél a súlyos infectio talaján alakult ki a veseműködés zavara. Eredményeink alapján feltehető, hogy ez a génpolymorphismus-asszociáció a szisztémás, illetve a vesében kialakuló gyulladás mértékét, ezáltal az ARF kockázatát koraszülöttekben befolyásolhatja.

Mivel súlyos fertőzésben szenvedő koraszülötteket vizsgáltunk, felvetődik a kérdés, hogy ezen genetikai variánsok közvetlenül az ARF-fel, vagy inkább a sepsissel vannak-e kapcsolatban. Eredményeink szerint a TNF α és IL-6 genetikai variánsok együttes jelenléte akkor is szignifikáns összefüggést mutatott az ARF kialakulásával, ha az összefüggést a sepsis jelenlétére korrigáltuk – illetve szeptikus betegeken végzett vizsgálataink nem mutattak semmiféle kapcsolatot a genotípus és a fenotípus között (ld. 4.1.2 rész). Ezért inkább az a valószínű, hogy ezen SNP-k együttes hordozása független kockázati tényező a neonatális ARF kialakulása szempontjából.

4.1.4. Enterocolitis necroticans

4.1.4.1. Eredmények

Logisztikus regressziós elemzésünk alapján a NEC szempontjából független kockázati tényező a sepsis; jelenléte közel négyszeresére emelte a NEC valószínűségét (OR: 3,96, CI: 1,10-14,2, $p=0,036$).

A NEC pathomechanizmusában kiemelt jelentősége van a fokozott gyulladásnak, valamint a bélfal vazoregulációs zavarának. Vizsgálatsorozatunk kapcsán 16 olyan SNP kapcsolatát elemeztük részletesen a NEC-kel, melynek hordozása a gyulladás intenzitását befolyásolhatja (12.a táblázat), illetve 5 olyan SNP-ét, amelynek hordozása az angiogenesisre lehet hatással (12.b táblázat).

Citokin-génpolymorphismusok [XIV-XVII. és XX. melléklet]

Három citokin esetében találtunk összefüggést a NEC kockázata és a hordozás között.

A fokozott IL-4 hatással járó IL-4receptor α hiánya lényegesen emelte a szövődmény kockázatát (OR [95% CI]: 2,51 (1,11-5,69)) [XVI. melléklet].

A NEC gyakoribb volt azoknál a gyermekeknél is, akik az alacsony IL-12 termeléssel járó allélt hordozták; a kockázat a legnagyobb a homozigóta mutánsoknál volt (2,91 [4,41-6,02]), míg heterozigotáknál valamelyes alacsonyabb (2,369 [1,01-5,53]) [XX. melléklet].

IL-18 esetében közvetlen kapcsolatot a NEC kockázata és a genotípus között nem találtunk, azonban a csökkent IL-18 szintekkel járó $^{-607}$ CC genotípus sokkal gyakrabban fordul elő azoknál a gyermekeknél, akik III. stádiumú (bélperforációval járó) NEC-ben szenvedtek. A genotípus prevalenciája ebben a csoportban 0,50 volt, szemben az I és a II stádiumú NEC-ben szenvedő betegekkel (prevalencia: 0,08 ($p < 0,01$) és 0,11 ($p = 0,021$)) [XV. melléklet].

Angiogenesisist befolyásoló génpolymorphismusok

A vizsgált VEGF genotípusok közül az alacsonyabb VEGF szintekkel járó VEGF $^{-2578}$ A allél jelenléte fokozta a NEC kockázatát, függetlenül az egyéb kockázati tényezőktől (korrigált OR [95% CI]: 2,77 [1,00-7,65]) [V. melléklet]. Fiúkban az ER α PvuII p allél hordozása mellett csökkent a NEC veszélye (OR [95% CI]: 0,24 [0,07-0,83]) [III. melléklet]. Az IGF1-R SNP hordozás nem függött össze a betegség kockázatával [VI. melléklet].

	NEC NINCS (VV/VM/MM %, allél prevalencia)	NEC VAN (VV/VM/MM %, allél prevalencia)
<i>Citokinek</i>		
TNF α G ⁻³⁰⁸ A	78 / 22 / 0 (0,11)	74 / 26 / 0 (0,13)
TNF α G ⁻²³⁸ A	97 / 3 / 0 (0,03)	96 / 4 / 0 (0,03)
IL-1 β C ³⁹⁵⁴ T	58 / 34 / 8 (0,25)	63 / 30 / 7 (0,22)
IL-12 p40 GC/CTCTAA	18 / 40 / 42 (0,61)	16 / 63 / 21 (0,52)*
IFN γ T ⁺⁸⁷⁴ A	16 / 56 / 28 (0,55)	23 / 50 / 27 (0,51)
IL-18 G ⁻¹³⁷ C	49 / 42 / 9 (0,29)	51 / 45 / 4 (0,26)
IL-18 C ⁻⁶⁰⁷ A	49 / 42 / 9 (0,29)	51 / 45 / 4 (0,26)
IL-6 G ⁻¹⁷⁴ C	53 / 36 / 11 (0,29)	41 / 52 / 7 (0,315)
IL-10 G ⁻¹⁰⁸² A	24 / 57 / 18 (0,47)	15 / 52 / 33 (0,58)
<i>Citokin receptor</i>		
IL-4R α A ¹⁹⁰² G	67 / 28 / 5 (0,19)	78 / 22 / 00 (0,125)**
<i>Veleszületett immunitás receptorai</i>		
CD14 C ⁻²⁶⁰ T	23 / 55 / 22 (0,49)	12 / 61 / 27 (0,57)
TLR4 A ⁺⁸⁹⁶ G	91 / 9 / 0 (0,044)	92 / 6 / 2 (0,047)
TLR4 C ⁺¹¹⁹⁶ T	92 / 8 / 0 (0,038)	95 / 5 / 0 (0,027)
CARD 15 G ⁺²⁷²² C	97 / 3 / 0 (0,01)	95 / 5 / 0 (0,02)
CARD 15 C ⁺²¹⁰⁴ T	79 / 21 / 0 (0,10)	85 / 15 / 0 (0,07)
CARD 15 ^{3020 ins} C	93 / 7 / 0 (0,04)	98 / 1 / 1 (0,03)

* logisztikus regressziós elemzés alapján különbség; részleteket lsd. a szövegben

** p < 0,05;

12.a táblázat Enterocolitis necrotisans (NEC) és genetikai polymorphismusok százalékos megoszlása. A gyulladásos válasz intenzitását befolyásoló genotípusok jelenléte. Rövidítések: lsd. 4. oldal VV: homozigóta vad; VM: heterozigóta; MM: homozigóta mutáns genotípus. Klinikai adatokat, betegszámokat a XIV-XVII és XX mellékletek tartalmazznak.

	NEC NINCS (VV/VM/MM %, allél prevalencia)	NEC VAN (VV/VM/MM %, allél prevalencia)
VEGF C ⁻²⁵⁷⁸ A	12 / 55 / 33 (0,60)	32 / 52 / 16 (0,42)*
VEGF G ⁺⁴⁰⁵ C	47 / 51 / 2 (0,27)	49 / 43 / 8 (0,29)
VEGF T ⁻⁴⁶⁰ C	18 / 55 / 27 (0,54)	28 / 51 / 21 (0,46)
ER- α PvuII Pp (T ⁻³⁹⁷ C) csak FIÚKBAN	19 / 45 / 36 (0,586)	23 / 56 / 21 (0,49)**
IGFR-1 G ⁺³¹⁷⁴ A	29 / 45 / 26 (0,48)	23 / 52 / 25 (0,51)

* p < 0,05;

** logisztikus regressziós elemzés alapján különbség; részleteket lsd. a szövegben

12.b táblázat Enterocolitis necrotisans (NEC) és angiogenesis. Az érfejlődést befolyásoló genetikai polymorphismusok. A gyulladásos válasz intenzitását befolyásoló genotípusok jelenléte. Rövidítések: lsd. 4. oldal. VV: homozigóta vad; VM: heterozigóta; MM: homozigóta mutáns genotípus. Klinikai adatokat, betegszámokat a III, V-VI mellékletek tartalmazzák.

4.1.4.2. Megbeszélés [XIII. melléklet]

Gyulladást befolyásoló génpolymorphismusok

A NEC pathogenesisében a bélfalat érintő gyulladás központi jelentőségű. Több vizsgálat eredménye is arra utal, hogy ennek hátterében részben a proinflammatoricus citokinek, így a TNF α és az IL-1 szintjének a megváltozása áll. Ezt támasztja alá az a megfigyelés, miszerint NEC-es újszülöttek Panneth-sejtjeiben, a lamina propria eozinofil sejtjeiben és a réteget infiltráló makrofágokban a TNF- α expresszója kifejezettebb [171], illetve, hogy a TNF α és az IL-1 β szint a NEC-es újszülöttek bélrezekátumainak teljes vastagságában magasabb [50]. (Érdekes módon azonban a TNF α , vagy az IL-1 β magasabb szintjeivel járó SNP-k hordozása nem volt gyakoribb NEC-es koraszülöttek esetében.) [XIV. melléklet]

Más adatok alapján NEC esetében nemcsak a gyulladásos citokinek termelése nő: több megfigyelés szerint a betegség előrehaladtával az IL-6 és az IL-10 szintek is emelkednek, sőt, prognosztikus jelentőségűek lehetnek NEC-ben [51,76]. A köldökzsinórvér IL-6 szintje is magasabb volt azon újszülöttek esetében, akiknél a születés után közvetlenül NEC alakult ki [69]. Összességében tehát valószínűnek tűnik, hogy a NEC egyes fázisaiban a pro-, más szakaszaiban pedig az antiinflammatoricus citokinek jelentősége a nagyobb.

Eredményeink megfelelnek az összetett pathomechanizmusnak. A NEC kockázatával / progressziójával szemben védő (IL-4receptor α A¹⁹⁰²G), illetve azt fokozó (IL-12 p40 GC/CTCTAA és IL-18 C⁶⁰⁷A) SNP-k hordozása ugyanis egyaránt antiinflammatoricus hatású.

Az IL-4 gátolja a makrofágok kolónia képzését, a monociták H₂O₂ termelését, és egyes gyulladásos mediátorok, így a TNF α és az IL-1 β szintézisét [172-175]. A bélfal súlyos gyulladásával járó felnőttkori gyulladásos bélbetegségekben is meghatározó jelentőségű, összefüggést találtak a betegség súlyossága és az IL-4 termelés között [176,177]. Bár a NEC és az IL-4 kapcsolatáról nem állnak rendelkezésre irodalmi adatok, mégis felvethető ennek a citokinnek a jelentősége a betegség kialakulásában.

Eredményeink szerint az IL-4 ra allél variánsa gyakoribb azoknál a koraszülötteknél, akiknél a NEC nem alakul ki; ez felveti az SNP protektív szerepét a NEC kialakulásával szemben. Ez az SNP az antiinflammatoricus IL-4 fokozott szignáltranszdukciójával jár.

Az IL-12 és NEC kapcsolatára vonatkozóan rendelkezésre állnak állatkísérletes adatok [178]. Az IL-12 a veleszületett immunitás alapvető mediátora, fontos szerepe van az antigénprezentáló sejtek és a T sejtek közötti kommunikáció megteremtésében. Több vizsgálat szerint az IL-12 szint a perinatális időszakban alacsony, ami szerepet játszhat abban, hogy az újszülött immunválasza Th₂ irányba eltolt, azaz a kis IL-12 szint védhet a perinatális gyulladásos szövődményekkel szemben [55,179]. Eredményeink azonban jelzik, hogy nem ennyire egyszerű a helyzet: a csökkent IL-12 szintekkel járó allél hordozásához nem csökkent, hanem fokozott NEC kockázat társul [XX. melléklet]. Hasonlóképp, az IL-18 – ami az IFN γ egyik legfontosabb induktora – csökkent termelésével járó (azaz elméletileg antiinflammatoricus hatású) SNP hordozása is kedvezőtlennek bizonyult a NEC prognózisa szempontjából [XV. melléklet].

Citokin genotípus – fenotípus vizsgálataink összességében tehát alátámasztják, hogy NEC-ben szerepet játszhat a bélfal immunhomeostasis zavarára való öröklött hajlam, azonban erősen leegyszerűsítő lenne a NEC-et a Th₁-mediált citokinek termelődési zavarával járó gyulladásos bélbetegségek közé sorolni.

Veleszületett immunitás receptorai. A NEC feltétele a bakteriális kolonizáció [180,181]. A bakteriális LPS jelentőségét NEC-ben több állatkísérlet igazolta [182]. Az eredmények alapján az LPS és a hypoxia szinergista módon szerepet játszik a bélrendszer hemodinamikai változásaiban, hypoperfúziójában és necrosisában. Az LPS és a peptidoglikán két fő útvonalon keresztül vált ki immunválaszt. Egyrészt aktiválja az LPS receptor komplexet, aminek a tagja a CD14 és a TLR4 is. Alternatív útvonalként a fagocitált peptidoglikán molekulák intracellulárisan aktiválják a CARD15-t. A szervezet

baktériumokkal szembeni válaszkészsége a sejtmembránon lévő, illetve az intracelluláris a bakteriális kötő fehérjék expressziójától függ, melyet az általunk vizsgált SNP-k befolyásolhatnak. A NEC és a vizsgált SNP-k közti kapcsolatra vonatkozóan először mi gyűjtöttünk adatot, azonban nem találtunk összefüggést. Ennek egyik oka lehet az is, hogy a vizsgált SNP-k prevalenciája (a CD14 C⁻²⁶⁰T SNP-t leszámítva) az általunk vizsgált betegcsoportban igen alacsony (0,10 alatti) [XVII melléklet].

Növekedési faktorok szintjét befolyásoló génpolymorphismusok

A növekedési faktorok, így a VEGF és az IGF, alapvetően befolyásolják a gastrointestinalis nyálkahártya regenerációs képességét [183]. A VEGF más adatok szerint a vazoregulációban, illetve a gyulladásos válasz intenzitásának a közvetlen szabályozásában is szerepet kap [184] [V. melléklet]. Ezért, bár adatok NEC-ben a VEGF-re vonatkozóan nincsenek, valószínűnek tűnik, hogy ehhez a szövödményhez is hozzájárul a VEGF eltérő termelése. SNP-vizsgálatunk is erre utal: összefüggést találtunk ugyanis az alacsony VEGF-szintekkel járó ⁻²⁵⁷⁸A genotípus hordozóknál a NEC veszélye emelkedett.

A VEGF mellett eredményeink az ösztrogén jelentőségére is utalnak [III. melléklet]. Az ösztrogén iránti érzékenységet befolyásoló SNP, az ER α PvuII 'p' allél jelenléte ugyanis védett a szövödménnyel szemben, de, hasonlóan a perinatális adaptációs zavarokhoz, csak fiúkban. Az ösztrogén a NEC pathogenesisét számos ponton befolyásolhatja; egyrészt alapvető hatást gyakorol a VEGF-indukálta angiogenesisre (ösztrogén hiányában ez kóros), másrészt befolyásolja a szövetek ischaemiás toleranciáját [185,186], illetve immunmoduláns hatása révén a pro- és antiinflammatoricus válasz egyensúlyát.

4.1.5. Bronchopulmonaris dysplasia

4.1.5.1. Eredmények

A BPD és a genotípus közti kapcsolatot egyrészt olyan SNP-k esetében vizsgáltuk, melyek a (tüdőben zajló) gyulladás intenzitását befolyásolják. Másrészt elemeztük azokat a polymorphismusokat is, melyek az irodalmi adatok alapján (ACE D/I), vagy klinikai megfigyelések szerint (ER α) összefügghetnek a BPD kockázatával. Munkánk során 30 különböző genetikai polymorphismus kapcsolatát vizsgáltuk BPD-vel: a 13. táblázatban csak azokat mutatom be, melyek a BPD-vel, vagy a lélegeztetés iránti igénnyel összefüggtek.

	BPD NINCS (VV/VM/MM %, allél prevalencia)	BPD VAN (VV/VM/MM %, allél prevalencia)
TNF α G ⁻³⁰⁸ A	80 / 20 / 0 (0,10)	63 / 37 / 0 (0,18)
IFN γ T ⁺⁸⁷⁴ A	18 / 82 / 0 (0,41)	8 / 92 / 0 (0,46)
IL-12 p40 GC/CTCTAA	13 / 49 / 38 (0,62)	31 / 52 / 17 (0,43)
L-selectin C ⁷²⁵ T (Pro ²¹³ Ser)	1 / 36 / 63 (0,81)	10 / 25 / 65 (0,77)
ER- α PvuII Pp	20 / 49 / 31 (0,55)	21 / 54 / 25 (0,51)

13. táblázat Bronchopulmonaris dysplasia (BPD) és genetikai polymorphismusok. BPD-vel, vagy a lélegeztetés iránti igényel összefüggő genotípusok megoszlása χ^2 próba alapján nem különbözött. Rövidítések: lsd. 4 oldal. Klinikai adatokat, betegszámokat a III, XIX-XX. mellékletek tartalmazznak.

A genotípus és a BPD közti kapcsolatot a BPD kockázati tényezőire való korrigálást követően is vizsgáltuk. Kiderült, hogy a BPD kockázatát az IFN γ ⁺⁸⁷⁴T allél hordozás csökkenti, míg a BPD kockázata az IFN γ ⁺⁸⁷⁴AA genotípusú IL-12 heterozigótákban, valamint az L-selectin ²¹³Ser hordozóknál nő (lsd. 14.a. táblázat).

A BPD dichotomikus változó, háttérében meghatározott ideig tartó légzéstámogatás áll. Ennek hossza viszont folyamatos változó. Ha elemzésünk során csak a BPD-t vennénk figyelembe, akkor a környezeti tényezők a genotípus (várhatóan kismértékű) hatását elfedhetik. Ezért a BPD mellett külön vizsgáltuk a genotípus és a légzéstámogatás hossza (pontosabban a lélegeztetett napok számának logaritmus) közti kapcsolatot (14.b táblázat). Ennél az elemzésnél kiderült, hogy az ER α PvuII p és a TNF α ⁻³⁰⁸A allélhordozás függetlenül befolyásolja a lélegeztetés hosszát.

Genotípus	béta	P	OR (95% CI)
IFN γ ⁺⁸⁷⁴ T allél hordozás	-1,05	0,049	0,35 [0,12 – 0,99]
IFN γ ⁺⁸⁷⁴ AA x IL-12 VM	1,49	0,042	4,43 [1,06 – 18,6]
L-selectin C ⁷²⁵ T (Pro ²¹³ Ser)	1,35	0,04	2,45 [1,01 – 5,95]

14.a. táblázat A születési súly mellett ($p < 0,05$) a fenti genotípusok jelentőségét mutatta ki Logisztikus regressziós vizsgálataink eredményei bronchopulmonaris dysplasiában. Rövidítések: IFN – interferon; OR – esélyhányados; CI – megbízhatósági tartomány; VM: heterozigóta. Megjegyzés: az egyes vizsgálatokban eltérő volt a betegszám, itt csak az összesített eredményeket mutatjuk be (részleteket lsd. IV és XX mellékletekben).

Változók	béta	p	Járulékos légzéstámogatási idő
Független változó: Oxigénterápia hossza			
Respirációs distressz-szindróma	0,60	0,014	44 óra
Tüdőgyulladás	0,41	0,020	36 óra
TNF α^{-308} A allél hordozás	0,48	<0,001	39 óra
ER α PvuII p	-0,35	0,002	-34 óra
IFN γ^{+874} T allél hordozás	-0,438	0,003	0,65 % vs. $+874$ AA
Független változó: Gépi lélegeztetés hossza			
Respirációs distressz szindróma	0,97	<0,001	63 óra
Születési súly (1000g alatt)	-0,28	0,007	-4,6 óra /100g
TNF α^{-308} A allél hordozás	0,74	0,004	50 óra
IFN γ^{+874} T allél hordozás	-0,533	0,002	0,59% vs. $+874$ AA

14.b. táblázat. Légzéstámogatás iránti igény és genotípus vizsgálata logisztikus regresszióval. Rövidítések: lsd. 4 oldal. Megjegyzés: az egyes vizsgálatokban eltérő volt a betegszám, itt csak az összesített eredményeket mutatjuk be (részleteket lsd. III, XIX, XX mellékletekben).

4.1.5.2. Megbeszélés

BPD kialakulására nagymértékben hajlamosít a koraszülöttség és a perinatális gyulladás (azaz a FIRS; részleteiben lsd 1.4.1.2). Az első életnapok történései, a lélegeztetés során jelentkező volu- és barotrauma, az oxigéntenzió hirtelen emelkedése egy olyan gyulladásos kaszkádot indít be, ami az esetek egy részében krónikus gyulladásához, a tüdő károsodásához vezet [187] [XVIII. melléklet].

A BPD hátterében zajló aspecifikus gyulladás első lépése a fehérvérsejtek kitapadása a tüdőszövethez. Ennek a folyamatnak az első lépéséért felelősek a selectinek [III. melléklet]. Magasabb E-selectin szintek prediktívek voltak BPD kialakulására [188]. A korai postnatalis időszakban mért solubilis L-selectin szintek szintén jól korrelálnak a későbbi oxigénkezelés hosszával és a BPD kockázatával [189]. Teoretikusan, ha a fehérvérsejtek felszínén fokozódik az L-selectin expresszió, a tüdőkárosító gyulladás is intenzívebb, így az a megfigyelésünk,

miszerint az expresszió megváltozásához vezető L-selectin ²¹³Ser hordozása fokozza a BPD kockázatát, a funkcionális vizsgálatok eredményeinek megfelelően.

A tüdőszövetben megjelent fehérvérsejtek nagy mennyiségű citokint termelnek; ezek központi szerepet játszanak a tüdőkárosodásban [190,191]. A citokinek hozzájárulnak a fehérvérsejtek inváziójához, a proteolitikus enzimek és reaktív oxigén intermedierek felszabadulásához. A közvetlen károsodáson túl a citokinek zavarják a tüdőfejlődést is.

Vizsgálataink során kiderült, hogy a BPD kialakulásában bizonyítottan szerepet játszó citokinek többsége (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12) esetében az SNP-k nem befolyásolták a BPD-t. Kivételt jelent a TNF α és az IFN γ . A TNF-alfa G⁻³⁰⁸A SNP szerepét BPD-ben három csoport is vizsgálta [XIX. melléklet]. A BPD és az SNP hordozás közötti kapcsolatra vonatkozó eredmények azonban ellentmondásosak: egy munkacsoport az A allél védő szerepét mutatta ki BPD-vel szemben [192], mi és egy másik munkacsoport viszont nem talált kapcsolatot ezen SNP hordozása és a BPD kockázata között [193]. Mégis, eredményeink arra utalnak, hogy a TNF α ⁻³⁰⁸A allél jelenléte – mely nagyobb TNF α szintekkel jár – befolyásolhatja az arra rászoruló újszülötteknél az oxigénadás iránti igényt. Ez az eredményünk megerősíti a nagy TNF α szintek korábban leírt, a tüdő patogenezisében betöltött központi szerepét. (Érdekes módon eredményeink ellentmondanak a felnőttekben talált adatoknak: egy megfigyelés szerint coronaria bypass műtét után a kis szérum TNF α szinttel járó genotípust hordozókban (így TNF α ⁻³⁰⁸GG genotípus mellett) hosszabb a mechanikai lélegeztetés ideje.

A TNF α mellett a veleszületett immunitás két fontos citokinjének, az IFN γ -nak és az IL-12-nek a genotípusának a BPD-vel való kapcsolatát is elemeztük [XX. melléklet]. Ebben a vizsgálatban az IFN γ ⁺⁸⁷⁴A és a légzéztámogatás iránti igény között találtunk kapcsolatot: megfigyeltük, hogy az IFN γ ⁺⁸⁷⁴T allél hordozók körülbelül 40%-kal rövidebb gépi lélegeztetést, illetve oxigénterápiát igényeltek, mint az allélt nem hordozó újszülöttek. Az IFN γ ⁺⁸⁷⁴T allél hordozás emelkedett IFN γ szintekkel jár, ezért eredményeink összhangban vannak azzal a megfigyeléssel, miszerint összefüggés áll fenn az elhúzódó gépi lélegeztetés és az alacsony szérum IFN γ szintek között RSV vírussal fertőzött újszülöttekben [194]. Vizsgálataink szerint az IFN γ ⁺⁸⁷⁴T allél hordozók a BPD kialakulásával szemben is védettek voltak, míg az IFN γ ⁺⁸⁷⁴AA és IL-12 GC/CTCTAA genotípusokat együtt hordozó újszülötteknél (azaz, akiknél várhatóan kisebb a citokintermelő képesség), fokozott a BPD kockázata. Bár egyelőre nincsenek adatok emberben a BPD és az IL-12, illetve IFN γ szintek közötti kapcsolatra, eredményeink jelzik: hasonlóan a NEC-hez, a BPD esetében sem biztos, hogy a genetikailag determinált csökkent citokin-termelő képesség biztosan véd a gyulladásos

szövődménnyel szemben. (Ez egyben fokozott óvatosságra int azokkal a készítményekkel kapcsolatban is, melyek célzottan egy adott gyulladásos citokinre hatnak.)

A gyulladás intenzitását befolyásoló génpolymorphismusok mellett a RAS genotípusát is vizsgáltuk BPD-ben [XXI. melléklet]. Újabb vizsgálatok szerint a RAS szerepet játszik a gyulladásos folyamatban is. Az AII-ről kimutatták, hogy fokozza a proinflammatorikus citokinek termelését, míg az ACE gátlás a sejtes gyulladásos válasz csökkenését eredményezte [195,196]. A közelmúltban a BPD és az ACE I/D polymorphismus összefüggését egy másik munkacsoport elemezte [109]. Egy, a miénknél éretlenebb populációban kimutatták, hogy a D allél (ami magas ACE aktivitással, és ezért magas AII szintekkel jár) prevalenciája magasabb BPD mellett. Ezzel szemben a mi esetünkben egy érettebb populációt vizsgálva a DD genotípus nem volt hatással a BPD kockázatára. Az AT1R A¹¹⁶⁶C genotípus hordozása sem volt hatással a BPD veszélyére. Az ellentmondás arra hívja fel a figyelmet, hogy a génpolymorphismusoknak a koraszülöttek morbiditására gyakorolt hatását alapvetően befolyásolja a gesztációs kor. (Random forest elemzésünk szintén ezt igazolta: részleteiben lsd. 6. rész).

A megzavart érfejlődésnek egyre nagyobb szerepet tulajdonítanak a BPD kialakulásában [18,197]. Az érfejlődés irányításában az angiogenetikus faktorok, elsősorban a VEGF játszik szerepet [198]. BPD-s állatmodellekben illetve BPD-s humán mintákban alacsonyabb VEGF szinteket találtak a plazmában és a tüdőmosó folyadékban. Az angiogenetikus faktorok termelését szabályozó gének funkcionális polymorphismusai szintén befolyásolhatják a BPD kockázatát. Ezt a hipotézist három VEGF SNP (G⁺⁴⁰⁵C, T⁻⁴⁶⁰C és C⁻²⁵⁷⁸A) esetében vizsgáltuk, de nem tudtuk igazolni [V. melléklet].

Végül, külön elemeztük az ösztrogén-érzékenységet befolyásoló ER α PvuII Pp SNP kapcsolatát a BPD-vel [III. melléklet]. (Vizsgálatunk Trotter és mtsai eredményein [118] alapult, akik ösztrogént adtak igen kissúlyú koraszülött lányoknak, és azt tapasztalták, hogy a kezelés védő hatású BPD-vel szemben – részleteiben lsd. 1.4.4.2). Eredményeink közvetve alátámasztják megfigyelésüket: a fokozott ösztrogénérzékenységgel járó p allél hordozásakor kevesebb ideig szorultak rá a gyermekek oxigénpótlásra. Az ösztrogén jelentőségére utal az is, hogy – hasonlóan a perinatális adaptációs zavarokhoz – ez a jelenség csak fiúk esetében volt detektálható (akiknek az ösztrogénszintje már ekkor is alacsonyabb a lányokéhoz képest). Bár az adott genotípus hatása (az oxigénadás hossza átlagosan 34 órával rövidebb) klinikailag nem túl számottevő, bizonyos esetekben (pl. nosocomialis fertőzések vonatkozásában) fontos lehet.

4.1.6. Koraszülöttek retinopathiaja

ROP valamilyen stádiumban az éretlen koraszülöttek többségénél kialakul. A genotípus – fenotípus kapcsolat vizsgálata során a ROP-os csoportba azokat a gyermekeket soroltuk, akiknél a ROP progresszió megakadályozása érdekében lézer-, vagy krioterapia alkalmazására került sor. (Ilyen beavatkozást 2+ - 4. stádiumú ROP esetén végeznek.)

ROP-os gyermekeken végzett vizsgálatsorozatunkban a genotípus – fenotípus közti kapcsolatot csak olyan gének polymorphismusaival összefüggésben vizsgáltuk, melyek terméke a retinában zajló érképzést bizonyítottan befolyásolják. Így a VEGF, az ER α és az IGF1-R SNP-k vizsgálata mellett elvégeztük az endoteliális NO-szintáz (eNOS) két polymorphismusának, egy 27 bp-ból álló szekvencia-repeat és a T⁻⁷⁸⁶C SNP, valamint az angiopoietin 2 (Ang2) G⁻³⁵C SNP vizsgálatát is. Az eNOS vizsgált polymorphismusai csökkent eNOS génexpresszióval járnak, míg az Ang2 SNP funkcionális következménye egyelőre nem ismert. (Ezen genetikai variánsok jelentőségét az egyéb perinatális szövődmények esetében egyelőre nem vizsgáltuk).

4.1.6.1. Eredmények

Genotípus-vizsgálataink eredményeit a 15. táblázat összegzi. A ROP-os koraszülöttek klinikai adatait a XXII-XXV sz. mellékletek részletezik.

Eredményeink szerint az eNOS 27-bp repeat aa genotípus és a VEGF ⁺⁴⁰⁵C allél hordozása egyértelműen fokozta a ROP kockázatát [XXIV. és XXV. melléklet]. Mivel a VEGF SNP-k kapcsolatosan öröklődnek, külön elemeztük a G⁺⁴⁰⁵C és T⁻⁴⁶⁰C SNP-k együttes hordozását ROP-os gyermekekben. Kimutattuk, hogy a ⁻⁴⁶⁰TT/⁺⁴⁰⁵GG kombináció hordozása csökkent a (korrigált OR, [95%CI]: 0,25 [0,06 – 1,10], p=0,067), addig a ⁻⁴⁶⁰TT/⁺⁴⁰⁵CC kombináció hordozása lényegesen fokozza (16,2 [1,96 - 134], p=0,01) a ROP kockázatát [XXII melléklet].

A VEGF C⁻²⁵⁷⁸A, Ang2 G⁻³⁵C, IGF1-R G⁺³¹⁷⁴A és ER α PvuII Pp SNP-k esetében nem volt kapcsolat a ROP-rizikóval [XXIII, XXIV. melléklet és [199]. Igaz, fiúkban a VEGF ⁻²⁵⁷⁸A allél hordozás valamelyest védett a súlyos látásromlást előidéző 4-5 stádiumú ROP-pal szemben (lélegeztetésre és terhességi korra korrigált OR, [95%CI]: 0,26 [0,07-0,96], p=0,044).

	ROP miatt NEM kezelt koraszülöttek (VV / VM / MM %, [allélprevalencia])	ROP miatt KEZELT koraszülöttek (VV / VM / MM %, [allélprevalencia])
eNOS 27-bp repeat (b/a)	71 / 28 / 1 (0,15)	43 / 47 / 10* ¹ (0,24)
eNOS T ⁻⁷⁸⁶ C	34 / 59 / 7 (0,33)	57 / 37 / 6 (0,32)
VEGF T ⁻⁴⁶⁰ C	24 / 53 / 23 (0,47)	31 / 55 / 14 (0,41)
VEGF G ⁺⁴⁰⁵ C	48 / 46 / 6 (0,30)	35 / 48 / 17* ² (0,41* ³)
VEGF C ⁻²⁵⁷⁸ A	24 / 53 / 23 (0,49)	31 / 56 / 13 (0,41)
Ang2 G ⁻³⁵ C	88 / 11 / 1 (0,06)	93 / 7 / 0 (0,03)
IGF1-R G ⁺³¹⁷⁴ A	28 / 48 / 24 (0,48)	30 / 50 / 20 (0,45)
ERα PvuII Pp	21 / 52 / 27 (0,47)	18 / 45 / 37 (0,41)

* $p < 0,05$

15. táblázat. Retinopathiás (ROP) gyermekeknél meghatározott genotípusok. Rövidítéseket lsd. 4. oldal; VV: homozigóta vad; VM: heterozigóta; MM: homozigóta mutáns genotípus. Klinikai adatokat lsd. XXII-XXV. melléklet és [199].

¹⁾ OR, [95%CI]: 1,82 [1,14-2,91]

²⁾ OR, [95%CI] korrigálva a nemre, az alkalmazott oxigénkezelés hosszára és a terhességi korra VEGF⁺⁴⁰⁵C hordozók esetén: 2,00 [1,02-3,92], $p=0,045$

³⁾ OR, [95%CI]: 3,37 ([1,17 -9,65], $p=0,011$)

4.1.6.2. Megbeszélés

A retinaerek fejlődésének a szabályozásában több növekedési faktor, hormon és vazóaktív anyag együttesen vesz részt [200]. Hipotézisünk az volt, hogy azoknak a génpolymorphismusoknak, melyek befolyásolják ezek termelését, jelentősége lehet a koraszülötteknél.

Vascularis endothelialis növekedési faktor

Eredményeink részben feltételezésünket igazolják: a megváltozott VEGF-szintézissel járó polymorphismusok hordozása és kombinációja szoros összefüggést mutat a ROP kockázatával, illetve a betegség progressziójával [XXII, XXIV. melléklet]. Ez a megfigyelésünk összhangban van a ROP pathomechanizmusával – azaz azzal, hogy egy kezdeti hiperoxiás fázis miatt bekövetkező ér-obliteráció után egy kóros angiogenezissel járó periódus kezdődik (részleteiben lsd. 1.3.6), amiben szerepe van a kórosan termelődő VEGF-nek [23].

Eredményeink megfelelnek azoknak a megfigyeléseknek, melyek a VEGF T⁻⁴⁶⁰C és a VEGF G⁺⁴⁰⁵C haplotípusok jelentőségét diabeteses retinopathiás betegeken igazolták [201]. ROP-os koraszülötteknél a VEGF gén SNP-it rajtunk kívül két munkacsoport elemezte. (Egy másik SNP, VEGF G⁻⁶³⁴C esetében Cooke és mtsai velünk egy időben vetették fel [202], hogy a fokozott VEGF-termeléssel járó genotípus ROP-ban gyakoribb; igaz, az ő eredményeiket mások nem tudták igazolni. [203])

Bár a génpolymorphismusok jelentősége ROP-ban eredményeink alapján egyértelműnek tűnik, a VEGF gén a 6-os kromoszóma egy olyan területén helyezkedik el, ami igen közel esik egyéb gének, pl. a HSP70 és TNF α génekhez. Mivel ezek és egyéb, a ROP kialakulásában potenciálisan szerepet játszó gének kapcsolatosan öröklődnek a VEGF-fel, nem lehet eldönteni, hogy a VEGF genotípus és a ROP közti összefüggés ok-okozati jellegű-e, vagy csak látszólagos és a háttérben valamelyik közel fekvő gén polymorphismusa áll-e.

Angiopoietin

A VEGF mellett több egyéb olyan faktor genotípusát is elemeztük, amely az angiogenezisre a VEGF-fel együtt hat [204]. Ide tartozik az Ang2, aminek a szintjét korábban magasabbnak találták ROP-ban. Hisztokémiai vizsgálatok szerint az Ang2 és a VEGF fokozottan expresszálódik a ROP esetén. Bár ez a gén is igen polimorf, SNP-inek jelentőségére vonatkozóan nincsenek adatok ROP-ban. Vizsgálatunk [XXIV melléklet] volt az első, ami az Ang2 -35. bp-n lévő SNP előfordulását elemezte; ez a gén promoterének azon a részén helyezkedik el, ami a Pax2, egy, a retina fejlődését is reguláló transzkripciós faktor számára tartalmaz kötőhelyet. A vizsgált SNP gyakorisága azonban igen kicsi volt ROP-ban szenvedő és nem ROP-os gyermekeknél egyaránt. Ez azt jelzi, hogy ennek az SNP-nek valószínűleg nincs jelentősége a betegség kialakulásában.

Inzulinszerű növekedési faktor.

A VEGF angiogén hatásainak a kifejtéséhez IGF-1 szükséges [205,206]. Az IGF-1 hatásait az IGF-1 receptor (IGF1-R) közvetíti, melynek az általunk vizsgált SNP-je (G⁺³¹⁷⁴A) mellett az IGF-1 szint csökken. Eredményeink azonban nem utalnak arra, hogy ez az SNP befolyásolná a ROP veszélyét: a genotípus-megoszlás ROP-os és nem ROP-os koraszülöttekben hasonló volt [XXIII. melléklet]. Ez valószínűleg azt jelzi, hogy a perinatális IGF szintekre a környezet gyors változása (anyai forrás megszűnése, táplálási tényezők, fertőzések, stb.) sokkal nagyobb hatást gyakorol, mint a genotípus.

Ösztrogén

A VEGF hatását befolyásolja az ösztrogén is; a hypoxia VEGF-expresszióra kifejtett hatása gátolható ösztrogén adásával. Rágcsáló ROP modellben például ösztrogén adásával sikerült megakadályozza a betegséget [207], ami közvetve utalhat arra, hogy a gyors postnatalis ösztrogén-depriváció hozzájárul a ROP kialakulásához. Az ösztrogén sejthatásait az ER közvetíti, az ER funkcionális SNP-i pedig befolyásolhatják az ösztrogén iránti érzékenységet. Vizsgálatunk során azonban mi nem találtunk kapcsolatot az ER genotípus és a ROP kockázata között [199]. Ez jelzi, hogy szemben azokkal az eredményeinkkel, melyek alapján a perinatális szövődmények kialakulását az egyéni ösztrogén-érzékenység befolyásolhatja, a ROP veszélye nincs kapcsolatban az ER-genotípussal.

Nitrogén-monoxid szintáz

Végül vizsgálatuk a ROP első szakaszában, a hyperoxia indukálta vasoobliterációban szerepet játszó NO termeléséért felelős enzim, az eNOS genetikai polymorphismusait is [XXV. melléklet]. Az NO számos egyéb élettani hatása mellett szerepet játszik az angiogenesisben és a vasculogenesisben is: hatására több, az angiogenesisben, és – proliferációban részt vevő faktor, így a VEGF termelése megváltozik (amit kis koncentrációban serkent, nagy koncentrációban gátol) [208,209]. Az eNOS jelentőségét jelzi az is, hogy NOS-gátló adásával, vagy az eNOS gén célzott inaktiválásával védeni lehet a kísérleti állatokat az oxigén okozta érobliterációval szemben[22, 210].

Korábban intenzíven vizsgálták a funkció megváltozásával járó eNOS repeat polymorphismus jelentőségét diabeteses retinopathiában, de az adatok ellentmondásosak [211-214]. ROP esetén mi gyűjtöttünk először adatot: érdekes módon azonban ebben a betegségben nem a nagy (bb), hanem a kis NO-termeléssel járó 'aa' genotípus volt gyakoribb. (Diabeteses retinopathia esetén a 'bb' genotípus a gyakori.) Bár ezt az eredményt az NO-szintek ismeretének hiányában nem tudjuk diszkutálni (akár még az is elképzelhető, hogy koraszülötteknél a polymorphismus eNOS expresszióra kifejtett hatása eltérő), megfigyelésünk jelezheti, hogy a humán ROP pathomechanizmusa más, mint az ischaemia-indukálta retinopathiás állatmodellé.

4.1.7. Genetikai polymorphismusok és koraszülöttség

A perinatális kórképek elválaszthatatlanok az éretlenségtől: a fent bemutatott és általunk vizsgált szövődmények túlnyomórészt koraszülötteket fenyegetnek. Ezért minden (anyai, vagy magzati, környezeti, vagy öröklött) tényező, ami fokozza a koraszülés kockázatát, egyben a koraszülöttséggel járó kórképek veszélyét is emeli.

Bár vizsgálataink során elsősorban a perinatális szövődmények vonatkozásában elemeztük a genotípus jelentőségét, a polymorphismusok jelentős hányadánál egészséges újszülöttekre, illetve felnőtt egészséges populációra vonatkozóan is gyűjtöttünk adatokat. Így lehetőség nyílt arra, hogy elemezhessük a vizsgált genetikai polymorphismusok eloszlását koraszülöttekben és összehasonlíthassuk az egészséges referenciaértékkel (lsd. 16. táblázat). (Néhány esetben, pl. ACE I/D polymorphismusnál referencia-értékként irodalmi adatokat használtunk.)

4.1.7.1. Eredmények

Eredményeink alapján a HSP72 ¹²⁶⁷GG genotípus, ami alacsonyabb HSP72 expresszióval jár, gyakoribb volt koraszülötteknél [XII. melléklet]. Ezen túl a Hardy-Weinberg kritérium sem teljesült, ami szelekciós hatásra utalhat. A HSP70 család alapvető szerepet tölt be a magzati fejlődés szabályozásában. Már a fogamzást követően rövid idővel expresszáldódik az embióban, és embrio-, majd magzatprotektív hatást tulajdonítanak neki. Koraszülötteken tett megfigyelésünk egybevág azokkal az adatokkal melyek szerint az anyai HSP ¹²⁶⁷G SNP hordozás egyes terhességi szövődményekre, pl. preeclampsziára hajlamosít [215].

Az L-selectin megváltozott expresszióját eredményező ²¹³Ser allél hordozás hordozás fordult elő gyakrabban a kissúlyú koraszülött csoportban (OR [95% CI]: 1,20 [1,03-1,40] p=0,045) [IV. melléklet]. Az adhézis molekulák (az E-, a P- és az L-selectin) expressziója elengedhetetlen az egészséges terhességhez, az implantációhoz és a placenta fejlődéséhez [216]. L-selectin hiányában a cytotrophoblast invázió zavart és terhesség nem jön létre. (Preeclampsziában például kóros L-selectin szinteket mértek [217]). Azt, hogy a mutáns L-selectin allél hordozás a koraszülött populációban gyakrabban fordul elő, először mutattuk ki az irodalomban.

A VEGF genotípusok közül a ⁺⁴⁰⁵CC felülreprezentált koraszülötteknél [V. melléklet]. (Ugyanezzel a genotípussal kapcsolatban egyébként a ROP fokozott veszélyét is kimutattuk.) A VEGF szintek eltéréseivel (csökkenésével) járó genotípus koraszülöttséggel való

kapcsolata az irodalmi adatok alapján nem meglepő, mivel ismert, hogy a VEGF elengedhetetlen a placentatiohoz és a terhesség fennmaradásához [218]

Érdekes módon két, a vazoregulációban szerepet játszó genetikai polymorphismus, a G-protein β -3 C⁸²⁵T SNP és ACE I/D polymorphismus esetében is eltérést találtunk a koraszülöttek és az egészséges referenciapopuláció között. A G-protein β -3 C⁸²⁵T genotípus esetében TT genotípust a koraszülöttek között nem tudtunk kimutatni (bár a T allél frekvenciája nem különbözött az egészséges újszülöttek és a koraszülöttek között). Ennek a genotípusnak a terhességben játszott jelentősége nem ismert. Ez az adat talán támpontul szolgálhat további vizsgálatok számára [VII melléklet]. Koraszülöttek esetében az alacsonyabb ACE aktivitással járó II genotípus gyakorisága mintegy negyede volt az egészséges referenciapopulációban észleltnek, illetve a DD genotípus hordozók aránya lényegesen felülreprezentált volt [I melléklet].

A gyermekek genotípus-mintázata és a koraszülés oka (fertőzés, preeclampsia) közt nem tudtunk kapcsolatot kimutatni.

4.1.7.2. Megbeszélés

A fenti polymorphismusok megoszlásában észlelt különbségek alapján felvetődik, hogy az általánosan ismert, koraszülésre hajlamosító tényezők mellett a magzat genotípusa is befolyásolhatja a koraszülés kockázatát. Ez azonban eddigi adataink alapján egyelőre pusztán hipotézis. Ennek több oka van:

Egyrészt vizsgálatainkhoz az anyagcsereszűrést követően megmaradt vérmintákat használtuk fel. Erre a vizsgálatra csak az 5. életnapon, illetve az oralis táplálás megkezdését követően kerül sor, így a perinatális időszakban meghalt betegek kimaradtak a vizsgálatból. Ha a vizsgált genotípus a perinatális mortalitás kockázatát fokozza, akkor az szelekciós hatást jelent. (Ezt a potenciális szelekciós hatást azoknál a szövődményeknél (IRDS, PDA, korai sepsis, IVH) kell szem előtt kell tartani, melyek az első élethét során lépnek fel; a később jelentkező ARF, NEC, BPD és ROP vonatkozásában jelentősége kisebb.)

Másrészt a magzat génjeinek a felét az anyától örökli. Azaz a magzat genotípusa az anyától nem független – lehet, hogy a megfigyelt kapcsolat hátterében az anyai genotípus eltérése áll. Ezt a lehetőséget az anya vizsgálata nélkül nem lehet kizárni, különösen azon vizsgálatok fényében, melyek jelzik az anyai genotípus jelentőségét koraszülésben. Ezek ismertetése az értekezés kereteit meghaladja; erre vonatkozóan adatok az értekezés leadásakor megjelent áttekintő közleményünkben található [XVIII. melléklet]. (Munkacsoportunk

Élettani jelentőség	Vizsgált génpolymorphismus	VV / VM / MM (%)	Hardy Weinberg Equilibrium: p érték	allél prevalencia koraszülötteknél (n)	egészséges allélprevalencia (n)	power
Gyulladás / citokin	TNF α G ⁻³⁰⁸ A	79 / 21 / 00	1,00	0,11 (136)	0,14 (248) ⁺	99,76%
	TNF α G ⁻²³⁸ A	97 / 3 / 00	0,19	0,03 (136)	0,46 (248) ⁺	8,83%
	IL-1 β C ³⁹⁵⁴ T	58 / 32 / 10	0,39	0,26 (126)	0,26 (171)	-
	IL-6 G ⁻¹⁷⁴ C	49 / 46 / 5	0,13	0,27 (136)	0,43 (257)	79,32%
	IL-10 G ⁻¹⁰⁸² A	21 / 54 / 24	0,31	0,51 (136)	0,42 (110)	26,62%
	IL-12 p40 GC/CTCTAA	29 / 51 / 21	1,00	0,46 (150)	0,44 (172)	5,34%
	IFN γ T ⁺⁸⁷⁴ A	33 / 47 / 20	0,61	0,43 (153)	0,44 (172)	3,72%
	IL-18 G ⁻¹³⁷ C	50 / 43 / 7	0,38	0,35 (132)	0,3 (167)	13,69%
	IL-18 C ⁻⁶⁰⁷ A	50 / 43 / 7	0,38	0,35 (132)	0,25 (167)	42,53%
Gyulladás / sejtfelszíni receptor	IL-4-rec α A ¹⁹⁰² G	65 / 29 / 5	0,38	0,19 (136)	0,39 (358)	95,69%
	E-selectin Ser ¹²⁸ Arg	66 / 31 / 3	1,00	0,18 (126)	0,13 (156)	19,33%
	P-selectin Thr ⁷¹⁵ Pro	78 / 22	0,18	0,11 (126)	0,12 (156)	4,35%
	L-selectin Pro ²¹³ Ser	65 / 32 / 3	1,00	0,19 (125)*	0,12 (156)	33,25%
	CD14 C ⁻²⁶⁰ T	19 / 57 / 24	0,15	0,52 (118)	0,55 (146)	4,91%
	TLR 4 A ⁺⁸⁹⁶ G	92 / 8 / 0	1,00	0,04 (118)	0,07 (146)	17,07%
	TLR 4 C ⁺¹¹⁹⁶ T	92 / 8 / 0	1,00	0,04 (118)	0,07 (146)	17,07%
Gyulladás / intracelluláris receptor	CARD 15 G ⁺²⁷²² C	97 / 3 / 0	1,00	0,01 (118)	0,01 (146)	-
	CARD 15 C ⁺²¹⁰⁴ T	81 / 19	0,31	0,09 (118)	0,06 (146)	13,85%
	CARD 15 ^{3020 ins} C	96 / 3 / 1	n.a.	0,03 (118)	0,03 (146)	7,09%

* p < 0,05

16. táblázat. 2/1 oldal Genotípus-eloszlás koraszülötteknél és egészséges populációban

Élettani jelentőség	Vizsgált génpolymorphismus	VV / VM / MM (%)	Hardy Weinberg Equilibrium: p érték	allél prevalencia koraszülötteknél (n)	Egészséges allélprevalencia (n)	power
Növekedési faktor	VEGF G ⁺⁴⁰⁵ C	48 / 46 / 6	0,18	0,29 (121)	0,22 (200)	36,91%
	VEGF T ⁻⁴⁶⁰ C	24 / 53 / 23	0,47	0,49 (128)	0,55 (200)	15,84%
	VEGF T ⁻⁴⁶⁰ C	25 / 53 / 22	0,62	0,49 (114)	0,51 (173)	4,86%
	Ang2 G ⁻³⁵ C	93 / 6 / 1	n.a.	0,03 (104)	n.a.	-
	ERα PvuII Pp	21 / 49 / 30	1,00	0,54 (142)	0,53 (167)	-
	IGF1-R	27 / 48 / 25	1,00	0,49 (140)	0,46 (164)	7,2%
Sejtvédelem	HSP72 A ¹²⁶⁷ G	26 / 67 / 7*	0,00	0,40 (130)	0,33 (122)	25,20%
	HSP73 G ¹⁹⁰ C	69 / 28 / 2	1,00	0,17 (130)	0,16 (131)	4,06%
Vazo-reguláció	ACE I/D	38 / 56 / 7*	0,01	0,34 (104)	0,44 (253) ⁺	31,41%
	AT1R A ¹¹⁶⁶ C	61 / 31 / 8	0,07	0,23 (159)	0,29 (253) ⁺	22,90%
	eNOS T ⁻⁷⁸⁶ C	43 / 47 / 9	0,47	0,33 (127)	0,08 (195)	99,91%
	eNOS 27bp repeat	71 / 28 / 1	0,22	0,14 (127)	0,20 (240)	24,53%
	G β-3 alegység C ⁸²⁵ T	31 / 69 / 0*	0,00	0,35 (97)	0,37 (101)	4,71%

* p < 0,05

+ irodalmi adat

n.a. nincs adat

16. táblázat. Genotípus-eloszlás koraszülötteknél és egészséges populációban. Rövidítések: HWE – Hardy-Weinberg equilibrium; VV: homozigóta vad; VM: heterozigóta; MM: homozigóta mutáns genotípus. Klinikai adatokat, betegszámot az egyes mellékletek tartalmazzák.

egyébként a koraszülés egyik fontos kockázati tényezője, a preeclampsia esetében ki is mutatta, hogy ez is, legalábbis részben, genetikailag determinált. A kockázatot a VEGF⁺⁴⁰⁵CC genotípus [218], a progressziót pedig a P-selectin⁷¹⁵Pro és a VEGF⁻²⁵⁷⁸A allélok hordozása fokozza [219].).

Ezen túl, ahogy azt a 16. táblázat is jelzi, vizsgálataink statisztikai ereje is kicsi. Ahhoz, hogy definitív különbséget lehessen kimutatni, további betegek, illetve az anya bevonása szükséges.

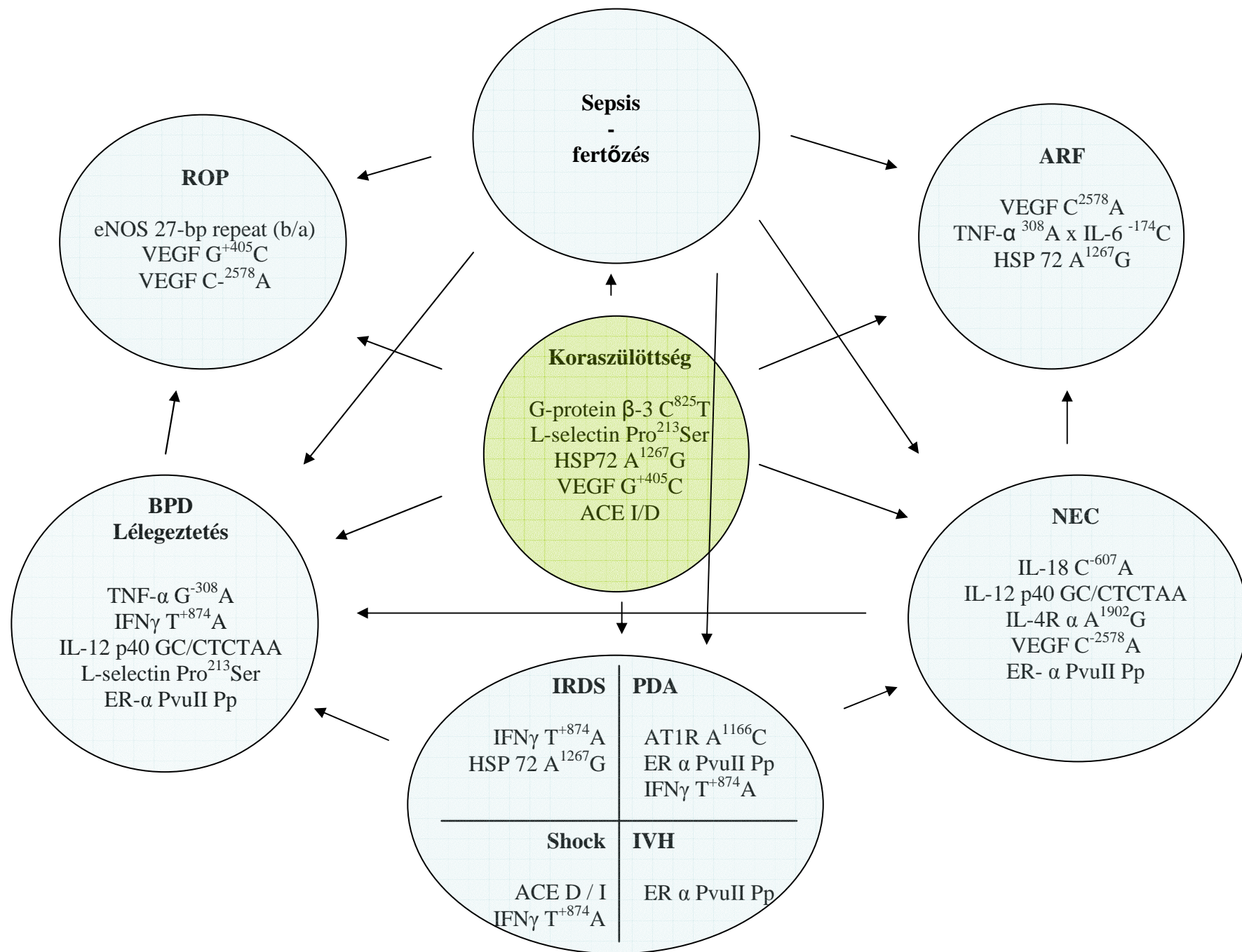
4.2. Genetikai polymorphismusok és perinatális szövődmények: komplex összefüggések

A perinatális szövődmények nem izoláltan jelentkeznek: sokszor kapcsoltan, szekvenciálisan lépnek fel, egyik a másik kockázatát alapvetően befolyásolja. A közöttük levő összefüggéseket vázlatosan szemlélteti az 1. ábra.

Ezért valószínűleg az egyes genetikai polymorphismusok nemcsak közvetlenül, hanem a kockázati tényezőkön keresztül közvetve is hatást gyakorolhatnak az adott szövődményre.

A kockázati tényezők, genetikai polymorphismusok és a szövődményállapotok (az ARF, NEC és BPD) közötti komplex összefüggéseket áttekintő közleményekben taglaltuk (ld. IX, XIII, XVIII mellékletek). A következő oldalon bemutatott 5. ábra sematikusán csak a munkacsoportunk által leírt genotípus-fenotípus felismeréseket szemlélteti az egyes szövődmények közötti kölcsönhatások tükrében.

Az ábrán látható, hogy vannak olyan SNP-k, melyek több szövődmény kockázatát egyidejűleg (közvetve, illetve a rizikófaktorokon keresztül közvetetten) befolyásolják. Egyértelmű, hogy a perinatális szövődmények esetében a kórképek heterogenitása és multifaktoriális eredete miatt nem könnyű a genotípus – fenotípus asszociációt leírni.



5. ábra Genotípus-fenotípus asszociációs vizsgálataink eredményeinek összefoglalása az egyes szövődmények közti kapcsolat tükrében. Az egyes szövődményeket körrel jelöltem, ebben feltüntettem az általunk kimutatott és közölt genotípus-fenotípus kapcsolatokat. Az ábrán látható a szövődmények közötti kapcsolatok, illetve, hogy vannak olyan SNP-k, melyek több szövődmény kockázatát egyidejűleg közvetlenül, és/vagy egyéb szövődményállapotokon keresztül közvetve befolyásolják. Rövidítéseket lsd. 4. ábra

4.3. Vizsgálataink korlátai

Bemutatott eredményeink genotípus-fenotípus asszociációs vizsgálatok során születtek. Az asszociációs vizsgálatoknak vannak előnyei és hátrányai.

Az asszociációs vizsgálatok előnye a viszonylag egyszerű vizsgálati elrendezés, egyszerű mintaszerzés, a genotipizálás költséghatékonysága, a viszonylag egyszerű statisztikai analízis, az egyszerű interpretálás lehetősége, valamint a humán biológiával való közvetlen összefüggés lehetősége.

Az ilyen típusú vizsgálatok hátrányaként sorolják az esetek és a kontrollok kiválasztásának nehézségét (az eseteknek és a kontrolloknak a vizsgált fenotípust kivéve a lehető legjobban hasonlítaniuk kell), a vizsgált fenotípus etiológiai és/vagy genetikai heterogenitását, illetve a vizsgált populációk eltérő genetikai háttere. Ugyancsak problémákkal jár az SNP-k, mint genetikai markerek alkalmazása. A vizsgálatokat azonban leginkább álpozitív eredményeket generáló hatása miatt támadják. A nagy kapacitású genotipizálás, illetve a többszörös hipotézis-vizsgálat viszont megnöveli annak a veszélyét, hogy a megfigyelt összefüggések csupán a véletlen hatása miatt alakulnak ki.

Az asszociációs vizsgálatok a jelentős limitáló faktorok ellenére is gyakorlati megközelítést jelentenek egy-egy biológiai probléma hipotézis-vizsgálatához. Gyenge pontjaik kiküszöbölésére az alábbi elvek alkalmazását javasolják, ezeket munkám során –amennyire a vizsgálatok sajátosságai ezt lehetővé tették - igyekeztem szem előtt tartani:

- 1) biológiailag releváns kérdés;
- 2) az eset- és a kontrollcsoportba tartozók megfelelő kiválasztása;
- 3) szigorú fenotipizálási követelmények;
- 4) megfelelően nagy esetszámok;
- 5) megfelelő valószínűségi értékek;
- 6) élettanilag értelmezhető eredmény, mely alátámasztja egy adott polymorphismus szerepét.

5. Az eredmények potenciális hasznosítása: célpont azonosítás és predikció

Vizsgálatunk során összefüggéseket azonosítottunk az egyes polymorphismusok hordozása és perinatális szövődmények között. Több olyan elemre sikerült rámutatni, amelynek jelentősége lehet egy adott szövődmény kialakulásában, de a klinikai gyakorlatban eddig nem gondoltak rá. Ilyen felismerésnek tartom az ösztrogén-receptorral szembeni érzékenységet befolyásoló SNP, illetve a RAS polymorphismusok összefüggését a perinatális adaptációs zavarokkal; a VEGF SNP-k perinatális szövődményekkel való kapcsolatát; a TNF α és az IFN γ , valamint az IL-12 SNP-k lélegeztetés iránti igénnyel való kapcsolatát. Természetesen azt, hogy az asszociáció háttérében valóban funkcionális eltérés áll-e (amelyet terápiásan befolyásolni lehetne), további vizsgálatok során kell igazolni. Mindenesetre úgy gondolom, hogy genetikai polymorphismus vizsgálataink a gyógyszerfejlesztés, valamint a terápia optimalizálása szempontjából végzett klinikai vizsgálatok számára kiindulási alapot jelenthetnek.

Az eredmények másik hasznosítási területe a diagnosztika, pontosabban a szövődmény-predikció lehet. Azt, hogy a genotípus-mintázat mennyire segíti ezt a célt, a következő, 6. rész mutatja be.

6. A genetikai polymorphismus-mintázat prediktív értéke (XXVI. melléklet)

A genetikai polymorphismusok perinatális jelentőségével foglalkozó vizsgálatok – beleértve a munkacsoportunk által végzetteket is – nem vizsgálják azt a kérdést, hogy mekkora járulékos prediktív információt jelent a genotípus ismerete a klinikai adatokhoz képest. Ennek fő oka, hogy az ezek során alkalmazott statisztikai módszerek, pl. a logisztikus regresszió erre nem alkalmasak, mivel velük egy adott szövődmény esetében csak korlátozott számú klinikai adat és genotípus kapcsolata vizsgálható. Amint a vizsgált változók száma emelkedik, az elemzéshez szükséges betegek száma is nő, így az általunk egyszerre elemezni kívánt sok genotípus esetében klasszikus statisztikai módszerek alkalmazása esetén a szükséges elemszám több tízezer. Ez reálisan sem Magyarországon, sem másutt nem biztosítható. Ezért a genetikai polymorphismus-mintázat prediktív értékének a meghatározására egy újonnan kifejlesztett nagydimenziós nemparaméteres módszert, az úgynevezett ‘random forest’ technikát (RFT) alkalmaztunk. Ez viszonylag kis elemszám mellett teszi lehetővé egyszerre sok változó összefüggésének a statisztikai vizsgálatát [220].

6.1 Random forest technika

A klasszifikációs fákon alapuló módszerek révén hatékonyan ki lehet válogatni azokat a tényezőket, melyek a leginkább felelősek egy adott fenotípusért. A döntési fákat könnyen lehet értelmezni, nagyszámú prediktort lehet velük egyszerre vizsgálni és heterogén betegcsoportok elemezhetők velük, így egyre inkább alkalmazzák őket a genetikai asszociációs vizsgálatok során. A hagyományos klasszifikációs, vagy döntési fák az összes változót és releváns esetet figyelembe veszik, amikor megalkotják egy, a tanulási folyamat során megalkotott fán belül az egyes elágazási pontokat. Az eljárás azonban nem elég robusztus, az adatok akár kismértékű változtatása esetén is nagyon eltérő döntési fa jön létre. Az RFT ezzel szemben a véletlenszerűen összeállított mintasokaságon véletlenszerűen összeállított változó-mintázatok alapján készíti el a döntési fát; ez a folyamat ismételten, elemzésenként több tízezerszer lezajlik, eredményeként pedig több tízezer fa képződik. Ez az eljárás lehetőséget biztosít arra, hogy meg lehessen határozni, milyen mértékben változik a klasszifikációs hiba, ha a változómintázatban szerepel, vagy éppen kimarad belőle egy adott változó. Ennek mértékét a fontossági pontérték, vagy importance score (IS) jellemzi. Ebben a statisztikai modellben az IS alapján lehet a változókat rangsorolni. (Mivel az egyes fák esetében számított IS független a másiktól, az IS vonatkozásában is ki lehet számolni a standard hibát. Az $IS / \text{az IS standard hibája}$ hányados adja a z-score-t, ami alapján minden IS-hez lehet szignifikancia-értéket rendelni.)

A változók alapján az RFT klasszifikálja a betegeket aszerint, hogy a vizsgált szövődményben szenvednek-e, vagy sem; a besorolás eredményeit a valós klinikai adatokhoz lehet viszonyítani. A folyamat eredményeként 2×2 -es mátrixok (valódi negatív, álpozitív, valódi pozitív, álpozitív csoportok) jönnek létre, amelyek mutatják a besorolás pontosságát. A pontosságot (accuracy értéket) a jól besorolt (azaz valódi pozitív és valódi negatív esetek) és az összes beteg aránya alapján ki lehet számítani.

Elemzésünk során azt kívántuk meghatározni, hogy megszületéskor csak a születési súly, terhességi hét és a nem alapján mennyire lehet előre jelezni egy gyermeknél a perinatális szövődmény kockázatát, illetve, hogy az előrejelzés pontossága javítható-e génpolymorphismusok együttes vizsgálatával ≤ 1500 gramm születési súlyú gyermekeknél. Erre a célra az RFT alapján végzett besorolás pontosságát használtuk fel.

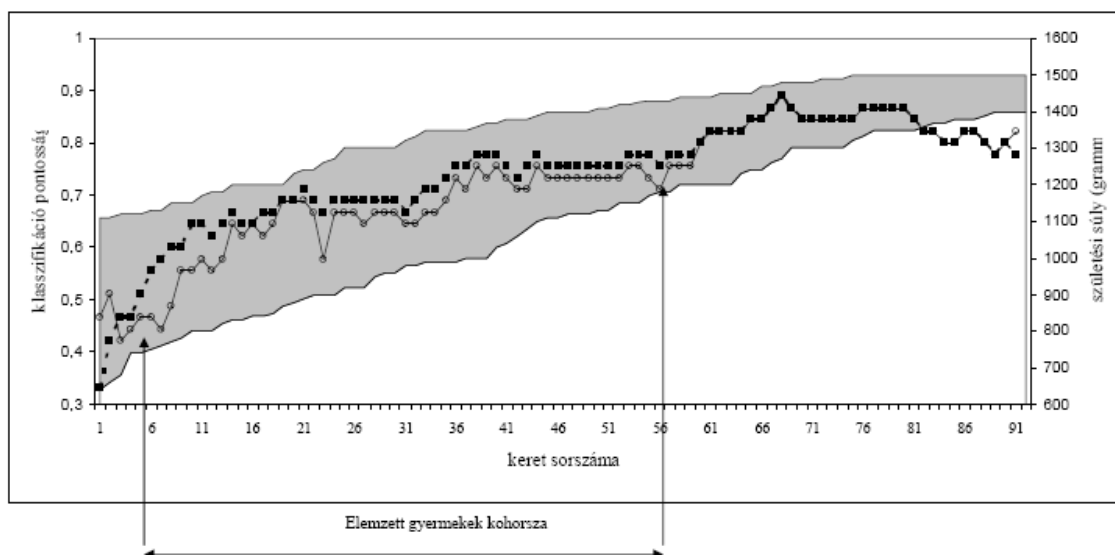
6.2. Elemzéshez használt adatok

A korábbi évek során létrehozott, részleteiben már közölt adatbázist elemeztük. Összességében 135 beteg esetében állt rendelkezésre 24 különböző genotípus esetében adat (részleteiben lsd. 16. táblázat). Emellett ismert volt nemük (65 lány, 70 fiú), születési súlyuk (középérték, (tartomány)): 1280 (700-1500) gramm) és az, hogy hányadik gesztációs hétre születtek (30 (24-32) hét), valamint, hogy érintettek voltak-e a különböző perinatális szövődmények, így a IRDS (n = 67), PDA (n = 52), shock (n = 44), IVH (n = 44), sepsis (n = 37), ARF (n = 42), NEC (n = 53) és BPD (n = 24) szempontjából. Az elemzést ROP-ban szenvedő gyermekekkel kapcsolatban is elvégeztük (n = 74). A vizsgált szövődmények diagnózisát nemzetközileg elfogadott kritériumok alapján állítottuk fel, részleteiben lsd. előbb.

Mivel a perinatális adaptáció sikerét a koraszülöttség és az éretlenség alapvetően meghatározza, a polymorphismusok járulékos védő/hajlamosító hatását különböző mértékben befolyásolja a fejlettségi állapot és a populáció heterogenitása, ami bizonytalan eredményekhez vezethet. Azaz a szövődmények – genetikai polymorphismustól függetlenül – a nagyon éretlen populációban obligát módon jelentkeznek, a genotípus valószínűleg csak az érettebb koraszülötteknél játszik szerepet. Az érettebb koraszülötteknél viszont az események ritkábbak, így sokkal több beteg bevonása lenne szükséges a polymorphismusok hatásának a vizsgálatához (illetve a kérdésfeltevés csak egy igen szűk populációra vonatkozna, eredményeink a célpopulációt – az éretlen koraszülötteket – tekintve nem lennének hasznosíthatók). Feltehetően a fejlettség szempontjából van egy olyan 'szürke zóna', amikor a szövődmények előfordulnak még, de a génpolymorphismusok jelentőségét az éretlenség már nem fedi el teljesen.

Elemzésünk során az első lépés ennek a szürke zónának a behatárolása volt. Ennek érdekében először létrehoztunk egy összesített morbiditási értéket (0 – 8); meghatároztuk minden egyes betegnél azt, hogy hány különböző szövődményben szenvedett. A morbiditási érték középértéke alapján a betegeket két csoportra osztottuk: nagyon beteg (> 3) és kevésbé beteg (≤ 3). Ezután a 135 beteget születési súly alapján sorba állítottuk és egy 'keretet' hoztunk létre, ami először a 45 legkisebb súlyú betegből létrehozott csoportot fedte le. Náluk meghatároztuk a klasszifikáció pontosságát csak a terhességi kor, születési súly és nem, illetve ezek +

génpolymorphismusok alapján RFT-vel. Ezt a keretet eggyel arrébb tolva (azaz a legkisebb súlyú beteget kihagyva, illetve a sorban következő súlyú gyermeket bevéve) megismételtük az elemzést. A keret minden egyes pozíciója mellett kiszámoltuk a klasszifikáció pontosságát, amit grafikusán ábrázoltunk (6. ábra).



6. ábra. A genotípus és a szövődmények közti kapcsolatot random forest technikával elemzett populáció kiválasztása. Üres körök folyamatos vonallal: születéskori adatok alapján a klasszifikáció pontossága Sötét négyzetek szaggatott vonallal: születéskori adatok alapján, plusz a genotípus adatok alapján a klasszifikáció pontossága

A 6. ábrán látható, hogy a genotípus mellett, illetve anélkül számított klasszifikáció 680 és 1430 gramm születési súly között tért el valamelyest; a genotípusok hatását így ebben a születési súlytartományban elemeztük.

Ezeknél a gyermekeknél ($n = 100$) minden egyes perinatális szövődmény esetében kiszámoltuk az összes klinikai és genotípus jellemző IS értékét. A leginkább szignifikáns ($p < 0,10$) IS értékekkel rendelkező változók alapján alakítottuk ki azt a változó-mintázatot, aminek a segítségével klasszifikáltuk a betegeket a IRDS, PDA, shock, IVH, sepsis, ARF, NEC, és BPD szerint. Az így elért klasszifikációs pontosságot a csak a születési adatok alapján elért klasszifikációs pontossághoz viszonyítottuk. Az elemzéseket Fortran 77 kódok felhasználásával [221], R statisztikai környezetben végeztük [222] ‘party’ programcsomagok alkalmazásával [223].

6.3. Eredmények

Az egyes perinatális szövődmények esetében betegenként a különböző változókra kiszámított IS értékeket ún. heatmap ábrákon szemléltetem (7. ábra). Az egyes szövődmények esetében a legnagyobb IS értékű változókat ($p < 0,10$) a 17. táblázat mutatja be.

Minden egyes szövődmény esetében (az ARF-t leszámítva), a születési súly és a születéskori gesztációs kor a legfontosabb prediktorok közé tartozott. Egyes genetikai polymorphismusok szintén fontos prediktornak bizonyultak, olyannyira, hogy bizonyos szövődmények esetében IS értékük megközelítette, sőt, meg is haladta a születéskori klinikai adatokét (pl. IL-12 p40 polymorphismusé NEC esetében). ARF esetében az IS értékek általában véve alacsonyak voltak; a születési súly és a gesztációs kor nem is bizonyult szignifikáns prediktornak, csupán néhány genetikai polymorphismus. Az is látható, hogy sok esetben a nagy fontosságú polymorphismusok nem mutattak szignifikáns összefüggést az adott szövődménnyel az asszociációs vizsgálat során.

A számított IS értékek alapján ‘optimális klasszifikációs mintázatokat’ hoztunk létre, melyekbe csak azok a változók kerültek, melyeknek az IS értékénél a p érték 0,10 alatt volt. Ennél a lépésnél meghatároztuk a besorolás pontosságát optimális klasszifikációs mintázatok és csak a születési adatok mellett (18. táblázat).

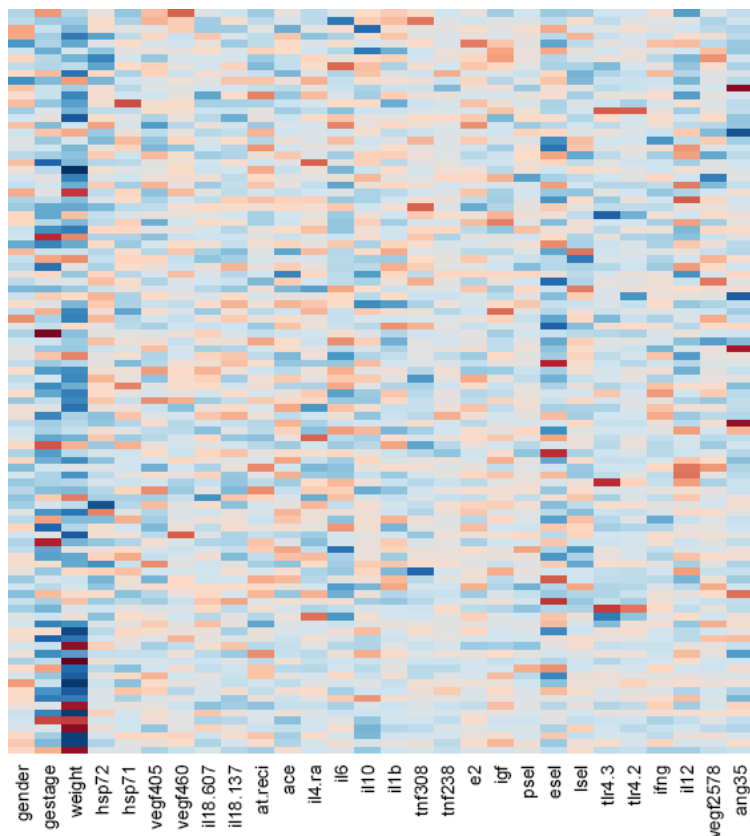
Összesített eredményeink alapján a besorolás pontossága a legtöbb szövődmény esetében mintegy 0,06 – 0,10-del javult, amikor a legnagyobb IS értékű genotípus értékeket is bevettük az elemzésbe. Kivételt képez a kamraúri vérzés (0,06-dal romlott a klasszifikáció pontossága), valamint a BPD (nem változott).

Szövegmény	Prediktor	fontossági pontérték	p érték
Légzési distress szindróma	terhességi kor	14,338	<0,001
	születési súly	9,732	<0,001
	E-selectin ¹²⁸ Arg	3,878	<0,001
	TLR-4 ³⁹⁹ Ile	3,647	<0,001
	IL-12 p40 GC	3,637	<0,001
	IL-18 ⁻¹³⁷ C	3,198	0,001
	TNFα ⁻²³⁸ A	2,229	0,013
	IL-18 ⁻⁶⁰⁷ A	2,153	0,016
	VEGF ⁺⁴⁰⁵ G	1,545	0,061
	P-selectin ⁷¹⁵ Pro	1,289	0,099
Nyitott Botallo-vezeték	terhességi kor	7,073	<0,001
	születési súly	3,877	<0,001
	VEGF ⁺⁴⁰⁵ G	3,785	<0,001
	ACE D	3,205	0,001
	Ang ⁻³⁵ C	2,570	0,005
	IL-12 p40 GC	1,564	0,059
Keringési elégtelenség	terhességi kor	6,583	<0,001
	születési súly	6,539	<0,001
	HSP 71 ¹⁹⁰ C	5,835	<0,001
	IFNγ ⁺⁸⁷⁴ A	3,748	<0,001
	Ang ⁻³⁵ C	3,142	0,001
	ACE D	2,439	0,007
	IL 4-receptor α ¹⁹⁰² G	1,840	0,033
	ER 2 PvuII p	1,649	0,05
	TLR-4 ³⁹⁹ Ile	1,499	0,067
Kamrai vérvzés	terhességi kor	9,113	<0,001
	ER 2 PvuII p	3,254	0,001
	VEGF ⁻⁴⁶⁰ C	3,182	0,001
	IL-6 ⁻¹⁷⁴ C	2,541	0,006
	AT1-R ¹¹⁶⁶ C	2,125	0,017
	VEGF ⁺⁴⁰⁵ G	1,715	0,043
	IL-12 p40 GC	1,466	0,071
	Ang ⁻³⁵ C	1,414	0,079
	HSP 71 ¹⁹⁰ C	1,300	0,097
Sepsis	születési súly	9,847	<0,001
	terhességi kor	6,273	<0,001
	E-selectin ¹²⁸ Arg	4,737	<0,001
	TLR-4 ³⁹⁹ Ile	4,717	<0,001
	Ang ⁻³⁵ C	3,671	<0,001
	TLR-4 ²⁹⁹ Gly	3,643	<0,001
	L-selectin ²¹³ Ser	2,622	0,004
	HSP 71 ¹⁹⁰ C	1,962	0,025
	IL-18 ⁻⁶⁰⁷ A	1,779	0,038
	IL-6 ⁻¹⁷⁴ C	1,543	0,061
Akut veseelégtelenség	IL1-β ³⁹⁵⁴ T	1,818	0,035
	IL 4-receptor α ¹⁹⁰² G	1,629	0,052
	AT1-R ¹¹⁶⁶ C	1,618	0,053
	P-selectin ⁷¹⁵ Pro	1,461	0,072

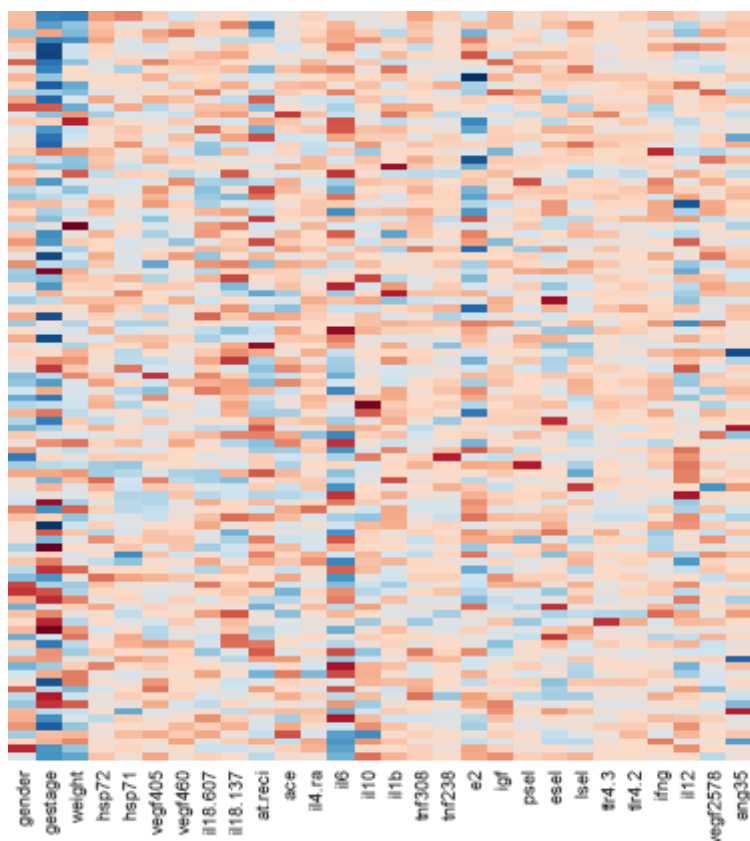
17. táblázat, 2/1 oldal; magyarázatot lsd. következő oldalon.

Szövődmény	Prediktor	fontossági pontérték	p érték
Enterocolitis necrotisans	IL-12 p40 GC	4,204	<0,001
	terhességi kor	3,576	<0,001
	IL-10 ⁻¹⁰⁸² A	3,284	0,001
	VEGF ⁻⁴⁶⁰ C	3,272	0,001
	születési súly	1,814	0,035
	ACE D	1,789	0,037
Bronchopulmonaris dysplasia	terhességi kor	6,410	0,000
	születési súly	3,557	0,000
	IL-18 ⁻⁶⁰⁷ A	2,274	0,011
	TNFα ⁻²³⁸ A	1,680	0,046
Retinopathia	terhességi kor	18,656	<0,001
	VEGF ⁻²⁵⁷⁸ A	7,992	<0,001
	VEGF ⁺⁴⁰⁵ G	5,955	<0,001
	angiopoietin ⁻³⁵ C	5,748	<0,001
	eNOS 27bp repeat	4,669	<0,001
	születési súly	4,140	<0,001
	ERα PvuII p	2,433	0,007
	Nem	2,425	0,008
	VEGF ⁻⁴⁶⁰ C	2,157	0,016

17. táblázat Legnagyobb fontossági pontértékű változók a különböző perinatális szövődmények szerint történő klasszifikációkor. Rövidítéseket lsd. 4 oldalon.

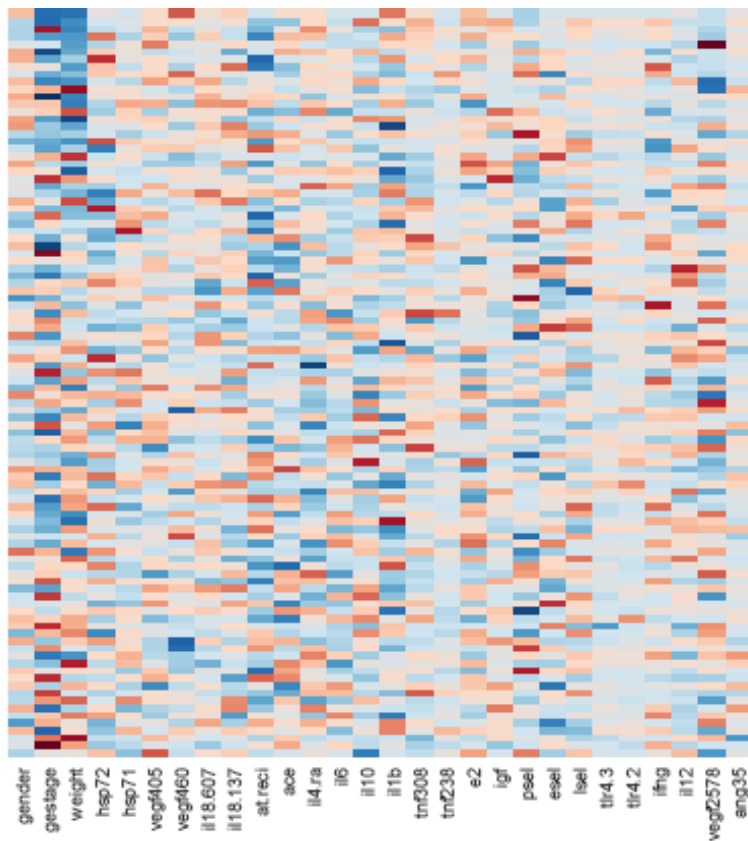


7.a Heatmap ábrázolás: Genetikai variánsok prediktív értéke sepsisben

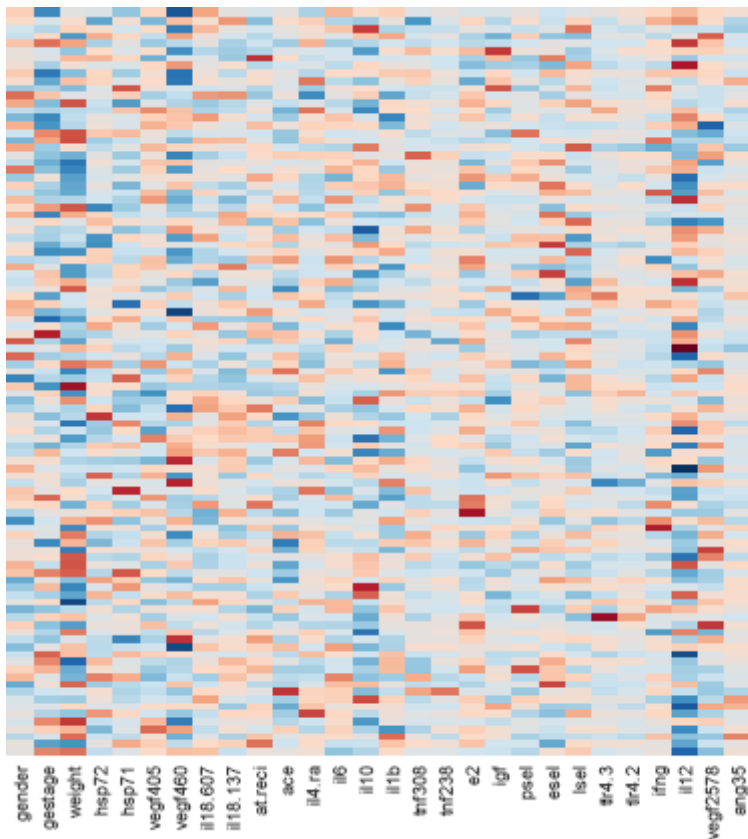


7.b Heatmap ábrázolás: Genetikai variánsok prediktív értéke intraventricularis vérzésben

Az ábrán a sorok a vizsgálatban résztvevő betegeket jelentik; egy téglalap egy betegnél egy adott változó fontossági pontértékének (IS) felel meg. A kék szín nagyobb, a piros kisebb pontértéket jelez.

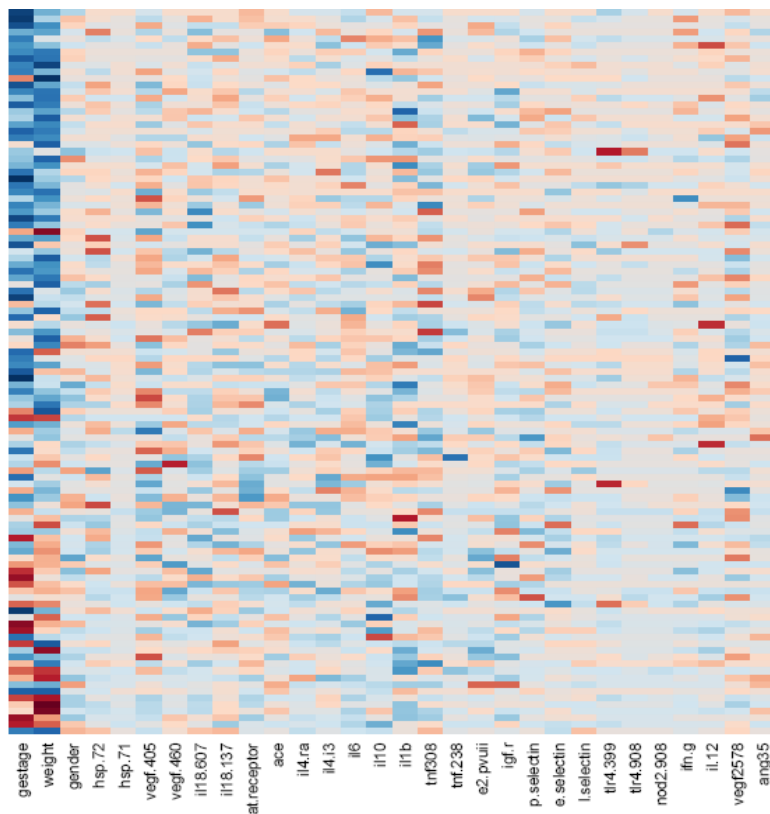


7.c Heatmap ábrázolás: Genetikai variánsok prediktív értéke akut veseelégtelenségben

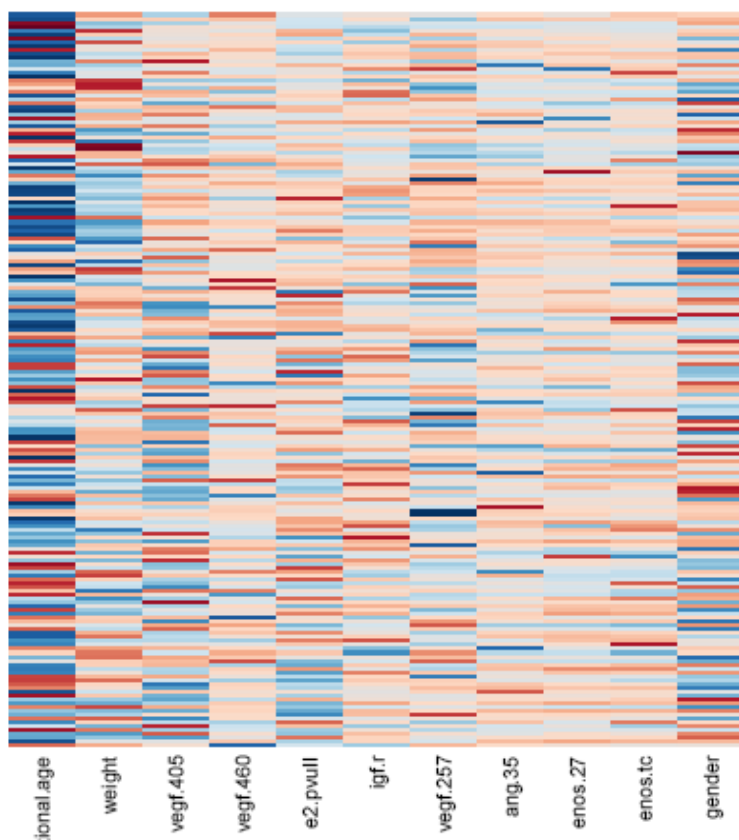


7.d. Heatmap ábrázolás: Genetikai variánsok prediktív értéke enterocolitis necroticansban

Az ábrán a sorok a vizsgálatban résztvevő betegeket jelentik; egy téglalap egy betegnél egy adott változó fontossági pontértékének (IS) felel meg. A kék szín nagyobb, a piros kisebb pontértéket jelez.



7.e. Heatmap ábrázolás: Genetikai variánsok prediktív értéke bronchopulmonaris dysplasiában



7.f. Heatmap ábrázolás: Genetikai variánsok prediktív értéke retinopathiában

7. ábra. A változók fontossági pontértékének a szemléltetése (heatmap-ábrák) Minden egyes változó (vízszintes tengely) esetében minden egyes betegnél (függőleges tengely) megjelenítésre kerül a fontossági pontérték. A kék szín arra utal, hogy a klasszifikációt az adott változó az adott betegnél segíti, míg a vörös szín arra utal, hogy a klasszifikáció romlik. Rövidítéseket lsd. 4. táblázat.

		Születési súly, gesztációs kor és nem szerinti klasszifikáció			Legnagyobb importancia-pontértékű változók szerinti klasszifikáció			
Szövődmény jelen van-e:		nincs	van	pontosság		nincs	van	pontosság
Klasszifikáció szerint:								
Légzési distress	-	30	11	0,72	-	34	10	0,77
	+	17	42		+	13	43	
Nyitott Botallo-vezeték	-	52	36	0,57	-	49	26	0,64
	+	7	5		+	10	15	
Keringési elégtelenség	-	68	27	0,68	-	70	24	0,76
	+	2	3		+	0	6	
Kamraüri vérzés	-	65	30	0,69	-	56	27	0,63
	+	1	4		+	10	7	
Sepsis	-	75	25	0,75	-	71	20	0,76
	+	0	0		+	4	5	
Akut vese-elégtelenség	-	70	30	0,70	-	68	22	0,76
	+	0	0		+	2	8	
Enterocolitis necrotisans	-	55	33	0,60	-	53	21	0,70
	+	7	5		+	9	17	
Bronchopulmonaris dysplasia	-	88	15	0,82	-	87	17	0,80
	+	4	2		+	5	0	
Retinopathia	-	82	49	0,56	-	101	48	0,66
	+	35	25		+	16	26	

18. táblázat A besorolás pontossága csak a születési súly és a gesztációs kor, vagy a születési súly és a gesztációs kor és a legnagyobb fontosságú pontértékű változók alapján. A besorolást RFT-vel végeztük; a cellák a jól és a rosszul besorolt betegek számát mutatják.

Cellák:

szövődmény	nincs	van
-	igazi negatív	álnegatív
+	álpozitív	igazi pozitív

6.4. Megbeszélés

Korábbi, genotípus-fenotípus összefüggést elemző vizsgálataink felépítése eset-kontroll jellegű volt. Ennek érdekében törekedtünk arra, hogy a vizsgált populáción belül minél homogénebb alcsoportokat alakítsunk ki, és ezeket hasonlítsuk egymáshoz. Ez azonban a klinikai gyakorlat szempontjából nem reális: a koraszülöttek minden vizsgálatban heterogének, legalábbis érettség, az alkalmazott terápia stb. szempontjából. Emiatt általánosan korrigáltuk ezekre a tényezőkre a megfigyelt összefüggést, elsősorban logisztikus regresszió alkalmazásával. Ennek a módszernek azonban az a hátránya, hogy alkalmazása során számos, nagyon kevés betegből álló alcsoport képződik, ami instabil eredményekhez vezet. Ez a jelenség mindenképpen hozzájárul ahhoz, hogy a perinatális szövődmények genetikai hátterével kapcsolatban végzett vizsgálatok eredménye ellentmondásos. Összefoglaló adatelemzésünk során így egy pár éve kifejlesztett nagy dimenziós nonparametrikus módszert, az RFT-t alkalmaztuk, amelyet kifejezetten az ilyen problémákkal jelentkező asszociációs vizsgálatok jellemzésére fejlesztettek ki [224].

Elemzésünk eredménye alátámasztja a mindennapos tapasztalatot: a perinatális szövődmények kockázatát elsősorban az éretlenség határozza meg, amit az alacsony születési súllyal és gesztációs korrall lehet jellemezni. Valóban, a gyakorlott neonatológusok általában már a szülőágynál viszonylag nagy pontossággal be tudják sorolni a világra jövő gyermeket, hogy a perinatális szövődmények szempontjából alacsony, vagy nagy kockázatú csoportba fog-e tartozni. A klasszifikáció pontosságát azonban milyen mértékben lehet javítani azzal, ha rendelkezésre áll információ a gyermek genotípusára vonatkozóan is?

Mielőtt kifejezetten erre a kérdésre tértünk volna, először azt elemeztük, hogy milyen fejlettség esetén érdemes a genotípus jelentette járulákos információt vizsgálni. Az ugyanis nyilvánvaló, hogy az igen éretlen koraszülötteknél az öröklött hajlamtól függetlenül sokkal nagyobb a perinatális szövődmények veszélye, azaz a genotípus ezeknél a betegeknél kisebb szerepet játszhat a kockázatban. Ezzel szemben érettebb újszülöttenél az öröklött hajlam jelentősége nagyobb – itt viszont a szövődmények incidenciája kicsi és nagyon sok gyermeket kellene ahhoz bevonni, hogy a genotípus szerepét vizsgálhassuk (ráadásul az eredmények haszna az

általános klinikai gyakorlat számára is megkérdőjelezhető). Van tehát egy olyan átmeneti populáció, aminél az éretlenség önmagában még nem fedi el a genetikai variánsok hatását, viszont az incidencia még elég magas ahhoz, hogy a kérdést vizsgálni lehessen. Elsőként ezért azt vizsgáltuk, hogy a születési súly függvényében a genetikai polymorphismus-mintázat ismerete milyen mértékben segíti az újszülöttek besorolását a 'nagyon beteg', vagy 'kevésbé beteg' csoportba. A hipotézisnek megfelelően genetikai polymorphismusok ismeretében, illetve annak hiányában, csak a klinikai adatok alapján végzett besorolás pontosságát a születési súly függvényében ábrázolva megállapítottuk, hogy ez a populáció a 680 és az 1430 gramm születési súly közé eső gyermekeket jelenti.

Azt is kimutattuk, hogy ebben az alcsoportban bizonyos, jól kiválogatott polymorphismus-mintázatok révén javítani lehet bizonyos perinatális szövődmények előrejelzésének a pontosságát. Meg kell említeni, hogy az RFT számos olyan polymorphismus esetében kiemelkedő fontossági pontértéket mutatott, melyek fontosságát az eset-kontroll vizsgálatok során nem jelezték. Ez egyrészt a kutatás számára mutathat új irányokat, másrészt felhívja arra a figyelmet, hogy valószínűleg a diagnosztikus célú genotípus-mintázat összeállítása nem alapulhat (csak) az eset-kontroll vizsgálatok során kapott megfigyeléseken.

Ezen túlmenően elemzésünknek vannak korlátai is. Bár az RFT robusztus módszer és így különösen alkalmas kis betegszámú vizsgálatok során kapott adatok elemzésére [225], a vizsgált betegek száma továbbra is kicsi. Valószínű, hogy az általunk elemzett populációban egyes szövődmények alul- vagy felülreprezentáltak, így nem tükrözik híven a mindennapos klinikai gyakorlatot. Ráadásul csak 24 génpolymorphismus prediktív értékét elemeztük, és nagyon valószínűnek tűnik az, hogy további genotípusok bevonása egyéb génvariánsok jelentőségére is felhívhatja a figyelmet (illetve inkább javíthatja a besorolás pontosságát). Végül több fontos klinikai jellemzőt, így a méhen belüli retardációt, a megszületést követő terápiás beavatkozásokat és az alkalmazott gyógyszeres kezelést sem vettünk figyelembe, hanem kizárólag a születési súlyhoz és gesztációs korhoz képest a genotípusok jelentette járulékos információra összpontosítottunk. Lehet, hogy nagyobb számú beteg bevonása esetén ezen tényezők alapján további alcsoportokat lehetne meghatározni, melyeknél a perinatális szövődmények iránti öröklött hajlam valamelyest különbözik a többitől. Van még értelme újabb prediktív változók

keresésének, ugyanis bármilyen változó-mintázatot is alkalmaztunk a betegeknek a szövődmenypredikcióra, a pontosság minden esetben jóval 1,00 alatti volt.

Mindezekről eltekintve elemzésünknek három szempontból van jelentősége. Egyrészt vizsgálatunk egy olyan az új statisztikai eljárást mutat be, amivel lehet heterogén populációkban, így koraszülöttekben a génpolymorphismusok betegségpredikcióban játszott szerepét vizsgálni lehet. Másrészt a koraszülötteken belül egy olyan alcsoportot azonosítottunk, amelynél érdemes a genotípus és a szövődmények közötti kapcsolatot elemezni. Harmadrészt pedig sikerült olyan optimális, részben genetikai polymorphismus-adatokat tartalmazó változó-mintázatot kialakítsunk, melyek alkalmazásával a koraszülötteknél nagyobb pontossággal előre lehet jelezni a legfontosabb perinatális szövődményeket.

7. Távlatok: koraszülöttek genotípusa és felnőttkori morbiditás?

Barker és munkatársai eredeti megfigyelése alapján epidemiológiai vizsgálatokkal világszerte több tízezer felnőtt bevonásával igazolták, hogy az alacsony születési súly több, felnőttkori idült betegség - így a magas vérnyomás, az obesitas, az ischaemias betegségek, a kettes típusú cukorbetegség - szempontjából is fokozott veszélyt jelent [226,227]. A vizsgálatok többsége azonban felnőtt populáción történt, amikor a primer prevenció lehetőségei beszűkültek.

Genetikai polymorphismusokkal kapcsolatos vizsgálatainkat megelőzően a Semmelweis Egyetem I.sz. Gyermekgyógyászati Klinikán kimutattuk, hogy a felnőttkori morbiditás fokozott veszélyére utaló jelek már fiatal korban megjelennek azoknál az egyébként panasz- és tünetmentes felnőtteknél, akik alacsony (2500 gramm alatti) születési súllyal jöttek a világra. Kiderült, hogy ennek a populációnak a tagjainál a vérnyomás a születési súllyal fordítottan változik [228,229], csökken a glükóz tolerancia [230], nagyobb ütemű a csontátépülés [231,232]. Méréseink szerint az eltérések hátterében a mellékvesekéreg túlműködése áll, szoros kapcsolatot találtunk a megfigyelt eltérések és a kortizol, valamint a dehidroepiandrosteron-(szulfát) szintek között [233].

A perinatális szövődmények és a genetikai háttér közti kapcsolat elemzésekor azonban felmerült: lehet, hogy a volt koraszülöttekben nagyobb gyakorisággal kialakuló idős kori betegségek hátterében egy öröklött komponens (genetikai polymorphismus) is szerepet játszik. Azaz, hogy egyes genetikai

polymorphismusok egyszerre fokozzák a koraszülöttség kockázatát és az időskori betegségek veszélyét.

Ezt a hipotézist több vizsgálati eredményünk is alátámasztja.

Egyrészt, több esetben kiderült, hogy egyes genetikai polymorphismusok jelenléte koraszülötteknél gyakoribb. Ilyen pl. a HSP72 ¹²⁶⁷GG, az L-selectin ²¹³Ser, vagy a VEGF ⁺⁴⁰⁵CC genotípus. Vannak vizsgálatok arra vonatkozóan, hogy ezek a genotípusok több felnőttkori betegségre [139, 234-237] hajlamosítanak.

Különösen a perinatális adaptációs zavarok esetében a RAS polymorphismusok védő hatást fejtettek ki: azaz az ACE D allél hordozóknál a keringési elégtelenség, az AT1R ¹¹⁶⁶CC genotípus esetén pedig a PDA volt ritkább. Ezek a gyermekek tehát várhatóan könnyebben tudnak adaptálódni az extrauterin élethez. A könnyebb adaptációnak viszont megvan az ára, amit később kell megfizetni: ezekről a genetikai polymorphismusokról ugyanis számos vizsgálat igazolta, felnőtt korban fokozzák a kardiovaszkuláris betegségek veszélyét. (Ezt az elképzelésünket a közelmúltban egy másik munkacsoport megfigyelései is alátámasztották [108].) Persze, azt, hogy az igen kissúlyú koraszülöttek egészségi állapota idős korban a perinatális időszakban szerepet játszó genetikai polymorphismusok jelenlétével hogyan függ össze, nem lehet ma még megmondani. A perinatológiai ellátás az utóbbi két évtizedben lett olyan színvonalú, hogy a koraszülött gyermekek többsége átvészeli ezt az időszakot. A válaszra még egy fél évszázadot kell várni. Bízom benne, hogy az akkori eredmények most bemutatott megfigyeléseinket fogják igazolni.

8. Tézisek. A kutatási eredmények összefoglalása. Legfontosabb felismeréseink.

1. A perinatális adaptációs zavarok esetében (I – VII mellékletek)

- a nyitott Botallo-vezetékkel szemben az angiotenzin II 1-es típusú receptor fokozott angiotenzin hatással járó genotípusa véd;
- keringési elégtelenséggel szemben a fokozott ACE-aktivitással járó genotípus véd;
- csak fiúkban a perinatális adaptációs zavarokkal szemben a fokozott ösztrogén-hatás közvetítő ösztrogén-receptor polymorphismus hordozása véd.

2. A sepsis esetén (VIII. melléklet)

- a kockázatot a gyulladás intenzitását befolyásoló genetikai polimorfizmusok nem befolyásolják.

3. Akut veseelégtelenség esetében (IX-XII mellékletek)

- a kórképre hajlamosít az ischaemiás inzultusokkal szembeni sejtvédelmet biztosító 70 kD-os hősokk-fehérje csökkent szintézisével járó genotípus hordozás;
- a fokozott gyulladásos hajlammal járó citokin-gén polymorphismusok hordozása növeli a veszélyt.

4. Enterocolitis necrotisans esetében (XIII-XVII mellékletek)

- az antiinflammatoricus hatás fokozódásával járó interleukin 4 receptor alfa génpolymorphismusa véd a szövődménnyel szemben;
- az eltérő interleukin-12 és -18 szintekkel járó genotípusok jelenlétekor a betegség veszélye nő és súlyosabb a progresszió.

5. A lélegeztetés és a bronchopulmonaris dysplasia esetében (XVIII-XXI mellékletek)

- egyes gyulladásos citokinek (tumor necrosis faktor- α , interleukin-12 és interferon- γ) termelését befolyásoló genetikai polymorphismusok mellett nő a lélegeztetés hossza

6. Retinopathia esetében (XXII-XXV mellékletek)

- a vascularis endothelialis növekedési faktor fokozott expressziójával járó genotípus mellett nő a betegség kockázata
- a nitrogén-monoxid szintáz enzim funkcionális polymorphismusai szintén összefüggnek a betegség veszélyével.

7. Összefoglaló elemzésünk (XXVI. melléklet) alapján

- a vizsgált genotípusok ismerete megszületéskor a szövődmény-predikció pontosságát legfeljebb 10%-kal javíthatja.

Köszönetnyilvánítás

Az eredményes munka soha nem egy ember érdeme: szellemi és anyagi háttér, alkotó és támogató közösség nélkül nincs siker. Kiváltképp így van ez az alkalmazott orvosi kutatások esetében, amikor az elméleti felfedezéseket a napi gyakorlat szintjén szeretnénk kamatoztatni. Már ahhoz is, hogy egy adott klinikai probléma tudományos kérdésként vetődjön fel, szoros szakmai – és baráti – kapcsolatban kell legyen a kutató és az érdeklődő klinikus. Úgy gondolom, ez a légkör az, ami a Semmelweis Egyetem I.sz Gyermekklinikát hazai és nemzetközi szinten kiemelkedővé teszi, és ami döntően hozzájárult az itt bemutatott eredmények eléréséhez.

A tudományos közeg kialakulása, egy szellemi műhely megszületése nem spontán folyamat. Hosszú évek erőfeszítését, áldozatvállalását igényli. Ez a munka, aminek gyümölcsét én is élvezem, mesterem, Tulassay Tivadar érdeme. Az alkotó közösség fenntartásán túl neki még ennél is többet köszönök. Azt, hogy több mint másfél évtizede megtisztel bizalmával, segít tanácsaival, emberi és szakmai példamutatással. Ő vezetett be a Klinikán működő kutatócsoportba és az annak munkáját segítő tágabb klinikai közösségbe is, amelynek tagjaitól felbecsülhetetlen segítséget kaptam és kapok.

A kutatócsoportban töltött közel nyolc esztendő alatt megadatot, hogy részt vehettem egy tehetséges és lelkes kutatónemzedék képzésében. Az értekezésemben bemutatott eredmények részben Balogh Ádám, Bányász Ilona, Bokodi Géza, Derzbach László, Erdei Gábor, Fekete Andrea, Györffy Balázs, Héninger Erika, Kocsis István, Rusai Krisztina, Tóth Péter, Treszl András és Vannay Ádám PhD munkája során születtek, akik egy részének közvetlen mentora lehettem.

Treszl András a vizsgálatokban kezdetek óta részt vesz. Ő az, akivel a genomikai vizsgálatoktól a funkcionális immunológiai mérésekig kialakítottam egy olyan metodikai eszköztárat, amelynek eredményeként nemzetközi színvonalú perinatológiai kutatást tudunk végezni. A bemutatott munka nélküle jelen formájában nem valósulhatott volna meg.

Munkám során klinikai részről elsősorban a Perinatális és Intenzív Osztály munkatársaival kerültem szorosabb kapcsolatba: Machay Tamás és Szabó Miklós a klinikai probléma definiálásában, az eredmények kiértékelésében és a további kutatási irányvonalak kijelölésében segít és segített nagy lelkesedéssel. A

társintézményekben – I. illetve II. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika PIC osztályain – évtizedek óta dolgozó Hajdú Júlia, illetve Nobilis András a mintagyűjtés megszervezése, az eredmények értelmezése terén nyújtott segítsége nélkül sem tudnánk kutatásainkat végezni. Schuler Ágnes a PKU-laboratórium részéről segített a minták gyűjtésében.

Eredményeink alapja a magas színvonalú laboratóriumi munka. Az ehhez szükséges tudást Nagy Iván, majd halála után Szabó Teréz és Szalai Csaba irányítása mellett a Heim Pál kórház központi laboratóriumában, illetve a klinika kutatólaboratóriumában Dobos Marianntól sajátíthattam el. A minták feldolgozásában, a mérések kivitelezésében segítséget nyújtott Bernáth Mária és Czárán Ágnes.

A laboratóriumban alkalmazott módszertannak köszönhetően lehetővé vált, hogy a klinikán folyó egyéb vizsgálatokban is részt vehettem. Úgy érzem, különösen eredményes együttműködést sikerült kialakítani Arató Andrással, Körner Annával, Madácsy Lászlóval, Reusz Györggyel, Szabó Attilával, Szabó Andrással, Szőnyi Lászlóval és Tóth-Heyn Péterrel. Az egyetemen munkacsoportunk és más, a perinatológia, illetve a perinatológiai szövődmények hosszú távú következményei iránt érdeklődő kutatók között is baráti és igen hatékony kapcsolat alakult ki. Közülük itt említem meg Rigó Jánost (I.sz. Nőgyógyászati Klinika), Szathmári Miklóst (I.sz. Belgyógyászati Klinika) és Vér Ágotát (Orvosi Vegytan Intézet); közös munkánk sikerét jelzik megjelent közleményeink.

Irodalomjegyzék:

1. Kocsis I, Györffy B, Németh É, és mtsa: Examination of Hardy-Weinberg equilibrium in papers of Kidney International: an underused tool. *Kidney International*, 2004; 65:1956-8.
2. Bardóczy Zs, Györffy B, Kocsis I, és mtsa: Re-calculated Hardy-Weinberg values in papers published in Atherosclerosis between 1995 and 2000. *Atherosclerosis*, 2004; 173:141-3.
3. Németh É, Vásárhelyi B, Györffy B, és mtsa: Prevalence of unreported skewness of genotype distributions in papers published in Critical Care Medicine between 1999 and 2003. *Crit Care Med*, 2004; 32: 1431-3.
4. Kocsis I, Vásárhelyi B, Györffy A, és mtsa: Reanalysis of genotype distributions published in Neurology between 1999 and 2002. *Neurology*, 2004; 63:357-358.
5. Györffy B, Kocsis I, Vásárhelyi B: Missed calculations and new conclusions: re-calculation of genotype distribution data published in J Invest Dermatol, 1998-2003. *J. Invest Dermatol*, 2004; 122:644-6.
6. Györffy B, Kocsis I, Vásárhelyi B: Biallelic genotype distributions in papers published in Gut between 1998 and 2003: altered conclusions after re-calculating the Hardy-Weinberg equilibrium. *Gut*, 2004; 53:614-6.
7. Neonatology: Management, procedures, on-call problems, diseases and drugs. 5th Edition. Editor: Gomella TL, Lange Medical Books, McGraw Hill. New York, USA 2004.
8. Avery's diseases of the newborn, 8th. Edition, Editors: Taeusch HW, Ballard RA, Gleason CA, Elsevier Saunders, Philadelphia, USA 2004.
9. Dollner H, Vatten L, Linnebo I és mtsai: Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early-onset sepsis. *Biol Neonate*. 2001; 80:41-7.
10. Seri I, Hajdu J, Kizsel J és mtsai: Effect of low-dose dopamine infusion on urinary prostaglandin E2 excretion in sick, preterm infants. *Eur J Pediatr*. 1988; 147:616-20.
11. Tulassay T, Rascher W, Hajdu J és mtsai: Influence of dopamine on atrial natriuretic peptide level in premature infants. *Acta Paediatr Scand*. 1987; 76:42-6.
12. Tóth-Heyn P, Drukker A, Guignard JP: The stressed neonatal kidney: from pathophysiology to clinical management of neonatal vasomotor nephropathy. *Pediatr Nephrol*. 2000; 14:227-39.
13. Neu J: Necrotizing enterocolitis: the search for a unifying pathogenic theory leading to prevention. *Pediatr Clin North Am* 1996; 43, 409-32.
14. Hsueh W, Caplan MS, Tan X és mtsai: Necrotizing enterocolitis of the newborn: pathogenetic concepts in perspective. *Pediatr Dev Pathol* 1998; 1, 2-16.
15. Edelson MB, Bagwell CE, Rozycki HJ: Circulating pro- and counterinflammatory cytokine levels and severity in necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 1999; 103:766-71.

16. Ng PC, Li K, Wong RP: Proinflammatory and antiinflammatory cytokine responses in preterm infants with systemic infections. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88: F209-13.
17. Christou H, Brodsky D: Lung injury and bronchopulmonary dysplasia in newborn infants. *J Intensive Care Med* 2005;20:76-87.
18. Kinsella JP, Greenough A, Abman SH: Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet* 2006; 367:1421-31.
19. Hardy P, Peri KG, Lahaie I és mtsai: Increased nitric oxide synthesis and action preclude choroidal vasoconstriction to hyperoxia in newborn pigs. *Circ Res* 1996; 79: 504-11.
20. Bada HS, Korones SB, Perry EH és mtsai: Mean arterial blood pressure changes in premature infants and those at risk for intraventricular hemorrhage. *J Pediatr* 1990; 117: 607-14.
21. Wheatley CM, Dickinson JL, Mackey DA és mtsai: Retinopathy of prematurity: recent advances in our understanding. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 696-700.
22. Brooks SE, GU X, Samuel S és mtsai: Reduced severity of oxygen-induced retinopathy in eNOS-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:222-8.
23. Smith LE: Pathogenesis of retinopathy of prematurity *Acta Paediatr* 2002; 437: 26-8.
24. An international classification of retinopathy of prematurity. Prepared by an international committee. *Br J Ophthalmol* 1984; 68:690-7.
25. Toti P, De Felice C: Chorionamnionitis and fetal/neonatal brain injury. *Biol Neonate* 2001, 79, 201-4.
26. Gomez R, Romero R, Ghezzi F és mtsai: The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1998, 179, 194-202.
27. Erdei G, Tóth P, Vásárhelyi B: Új klinikai entitás a perinatológiában: a magzati gyulladáshoz válaszreakció szindróma. *Orvosi Hetilap,* 2003; 144:1515-9.
28. Lyon A: Chronic lung disease of prematurity. The role of intra-uterine infection. *Eur J Pediatr* 2000; 159; 798-802.
29. Yoon BH, Romero R, Kim KS és mtsai: A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 1999, 181, 773-779.
30. Treszl A: Citokin gén-polymorphismusok jelentősége a kissúlyú koraszülötteket érintő perinatális szövődmények kialakulásában *PhD értekezés,* 2005, Témavezető: Vásárhelyi B.
31. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest.* 2000;118:503-508.
32. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest.* 2000;117:1162-1172.
33. Cavaillon JM: Pro- versus antiinflammatory cytokines: myth or reality. *Cell Mol Biol.* 2001;47:695-702.
34. Abbas AK, Lichtman AH: Cellular and Molecular Immunology 5th ed. Saunders / Elsevier Philadelphia, PA, USA.

35. Treszl A, Vásárhelyi B, Tulassay Zs, és mtsa: A tumor nekrosis faktor-alfa élettana és szerepe egyes betegségek patogenezisében *Magyar Belorvosi Archívum* 2000, 53: 397-403.
36. Berner R, Niemeyer CM, Leititis JU és mtsai: Plasma levels and gene expression of granulocyte colony-stimulating factor, tumor necrosis factor-alpha, interleukin (IL)-1beta, IL-6, IL-8, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in neonatal early onset sepsis. *Pediatr Res* 1998;44:469-77.
37. Atici A, Satar M, Cetiner S és mtsai: Serum tumor necrosis factor-alpha in neonatal sepsis. *Am J Perinatol* 1997;14:401-4.
38. Bertani T, Zoja C, Abbate M és mtsai: Tumor necrosis factor induces glomerular damage in the rabbit. *Am J Pathol* 1989; 134: 419-30.
39. Kayama F, Yoshida T, Kodama Y és mtsai: Pro-inflammatory cytokines and interleukin 6 in the renal response to bacterial endotoxin. *Cytokine* 1997; 9: 688-95.
40. Fouqueray B, Philippe C, Herbelin A és mtsai: Cytokine formation within rat glomeruli during experimental endotoxemia. *J Am Soc Nephrol* 1993;3: 1783-91.
41. Caplan MS, Sun XM, Hsueh W és mtsa: Role of platelet activating factor and tumor necrosis factor-alpha in neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1990; 116: 960-4.
42. De Dooy JJ, Mahieu LM, Van Bever HP: The role of inflammation in the development of chronic lung disease in neonates. *Eur J Pediatr*. 2001; 160 : 457-63.
43. Dizon-Townson DS, Major H, Varner M és mtsa: A promoter mutation that increases transcription of the tumor necrosis factor-alpha gene is not associated with preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;177:810-3.
44. Simhan HN, Krohn MA, Zeevi A és mtsai: Tumor necrosis factor-alpha promoter gene polymorphism -308 and chorioamnionitis. *Obstet Gynecol*. 2003; 102:162-6.
45. Roberts AK, Monzon-Bordonaba F, Van Deerlin PG és mtsai: Association of polymorphism within the promoter of the tumor necrosis factor alpha gene with increased risk of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:1297-302.
46. Saji F, Samejima Y, Kamiura S és mtsai: Cytokine production in chorioamnionitis. *J Reprod Immunol*. 2000; 47:185-96.
47. Kazzi SN, Romero R, McLaughlin K és mtsai: Serial changes in levels of IL-6 and IL-1beta in premature infants at risk for bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol*. 2001; 31:220-6.
48. Berner R, Welter P, Brandis M: Cytokine expression of cord and adult blood mononuclear cells in response to *Streptococcus agalactiae*. *Pediatr Res*. 2002; 51:304-9.
49. Thijs A, Thijs LG: Pathogenesis of renal failure in sepsis. *Kidney Int* 1998; 66: S34-7.
50. Viscardi RM, Lyon NH, Sun CC és mtsai: Inflammatory cytokine mRNAs in surgical specimens of necrotizing enterocolitis and normal newborn intestine. *Pediatr Pathol Lab Med* 1997; 17:547-59.

51. Harris MC, Costarino AT Jr, Sullivan JS és mtsai: Cytokine elevations in critically ill infants with sepsis and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1994; 124:105-11.
52. Moos V, Rudwaleit M, Herzog V és mtsai: Association of genotypes affecting the expression of interleukin-1beta or interleukin-1 receptor antagonist with osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2000; 43:2417-22.
53. Edwards RK, Ferguson RJ, Duff P. The interleukin-1 beta +3953 single nucleotide polymorphism: cervical protein concentration and preterm delivery risk. *Am J Reprod Immunol.* 2006;55:259-64..
54. Bokodi Géza Miklós: Genetikai polymorphismusok szerepe a bronchopulmonális dysplasia és a perinatális tüdőkárosodás kialakulásában. *PhD értekezés*, Budapest, 2007. Témavezető: Vásárhelyi Barna.
55. Maródi L: Innate cellular immune responses in newborns. *Clin Immunol.* 2006; 118:137-44.
56. Mahieu LM, De Dooy JJ, Ieven MM és mtsai: Increased levels of tumor necrosis factor-alpha and decreased levels of interleukin-12 p 70 in tracheal aspirates, within 2 hrs after birth, are associated with mortality among ventilated preterm infants. *Pediatr Crit Care Med.* 2005; 6:682-9.
57. Pravica V, Perrey C, Stevens A és mtsai: A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Hum Immunol.* 2000; 61: 863-866.
58. Speer EM, Gentile DA, Zeevi A és mtsai: Role of single nucleotide polymorphisms of cytokine genes in spontaneous preterm delivery. *Hum Immunol.* 2006; 67:915-23.
59. Jacobsson B, Holst RM, Mattsby-Baltzer I és mtsai: Interleukin-18 in cervical mucus and amniotic fluid: relationship to microbial invasion of the amniotic fluid, intra-amniotic inflammation and preterm delivery. *BJOG* 2003; 110:598-603.
60. Minagawa K, Tsuji Y, Ueda H és mtsai: Possible correlation between high levels of IL-18 in the cord blood of pre-term infants and neonatal development of periventricular leukomalacia and cerebral palsy. *Cytokine* 2002; 17:164-70.
61. Giedraitis V, He B, Huang WX, és mtsai: Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *J Neuroimmunol* 2001; 112: 146–152.
62. Delespesse G, Demeure CE, Yang LP és mtsai: In vitro maturation of naive human CD4+ T lymphocytes into Th1, Th2 effectors. *Int Arch Allergy Immunol.* 1997; 113:157-159.
63. Sandford AJ, Chagani T, Zhu S és mtsai: Polymorphisms in the IL4, IL4RA, and FCER1B genes and asthma severity. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 106:135-40.
64. Luheshi GN: Cytokines and fever. Mechanisms and sites of action. *Ann N Y Acad Sci.* 1998; 856:83-9.
65. Cavaillon JM: Cytokines and makrofágok. *Biomed Pharmacother.* 1994;48:445-53.
66. Romagnoli C, Frezza S, Cingolani A és mtsai: Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 in preterm neonates evaluated for sepsis. *Eur J Pediatr* 2001;160:345-50.

67. Kashlan F, Smulian J, Shen-Schwarz S és mtsai: Umbilical vein interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha plasma concentrations in the very preterm infant. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:238-243.
68. Matsuoka T, Matsubara T, Katayama K és mtsai: Increase of cord blood cytokine-producing T cells in intrauterine infection. *Pediatr Int* 2001;43:453-7.
69. Weeks JW, Reynolds L, Taylor D és mtsai: Umbilical cord blood interleukin-6 levels and neonatal morbidity. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 815-8.
70. Olomolaiye O, Wood NA, Bidwell JL: A novel NlaIII polymorphism in the human IL-6 promoter. *Eur J Immunogenet.* 1998; 25:267.
71. Simhan HN, Krohn MA, Roberts JM és mtsai: Interleukin-6 promoter -174 polymorphism and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2003; 189:915-918.
72. Apuzzio J, Chan Y, Al-Khan A és mtsai: Second-trimester 4amniotic fluid interleukin-10 concentration predicts preterm delivery. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2004;15: 313-7.
73. Garingo A, Tesoriero L, Cayabyab R és mtsai: Constitutive IL-10 expression by lung inflammatory cells and risk for bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res.* 2007; 61:197-202.
74. Ng PC, Li K, Leung TF és mtsai: Early prediction of sepsis-induced disseminated intravascular coagulation with interleukin-10, interleukin-6, and RANTES in preterm infants. *Clin Chem.* 2006; 52:1181-9.
75. Ng PC, Li K, Chui KM és mtsai: IP-10 is an early diagnostic marker for identification of late-onset bacterial infection in preterm infants. *Pediatr Res.* 2007; 61:93-8.
76. Edelson MB, Bagwell CE, Rozycki HJ: Circulating pro- and counterinflammatory cytokine levels and severity in necrotizing enterocolitis. *Pediatrics.* 1999; 103:766-71.
77. Bazrafshani MR, Ollier WE, Hajeer AH: A novel PCR-RFLP assay for the detection of the single nucleotide polymorphism at position -1082 in the human IL-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet.* 2000;27:119-120.
78. Daher S, Shulzhenko N, Morgun A és mtsai: Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol.* 2003;58:69-77.
79. Costeas PA, Koumouli A, Giantsiou-Kyriakou A és mtsai: Th2/Th3 cytokine genotypes are associated with pregnancy loss. *Hum Immunol.* 2004; 65:135-41.
80. Derzbach L: Szelektin és ösztrogén-receptor génpolymorphismusok jelentősége a perinatális gyulladásban. Ismert immunmoduláns szerek hatása a szelektin expresszióra, fagocita és burst funkcióra. *PhD értekezés*, 2007. Témavezető: Vásárhelyi Barna.
81. Chaiworapongsa T, Romero R, Yoshimatsu J és mtsai: Soluble adhesion molecule profile in normal pregnancy and pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002; 12: 19-27.
82. Buhner C, Graulich J, Stibenz D és mtsai: L-selectin is down-regulated in umbilical cord blood granulocytes and monocytes of newborn infants with acute bacterial infection. *Pediatr Res.* 1994; 36: 799-804.

83. Ramsay PL, O'Brian Smith E, Hegemier S, *és mtsai*: Early clinical markers for the development of bronchopulmonary dysplasia: soluble E-selectin and ICAM-1. *Pediatrics*, 1998; 102: 927-32.
84. Koehne PS, Wagner MH, Willam C *és mtsai*: Soluble intercellular cell adhesion molecule-1 and L-selectin plasma concentrations and response to surfactant in preterm infants. *Pediatr Crit Care Med*, 2002; 3: 23-8.
85. Ballabh P, Simm M, Kumari J *és mtsai*: Neutrophil and monocyte adhesion molecules in bronchopulmonary dysplasia, and effects of corticosteroids. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2004; 89: F76-83.
86. Kamiuchi K, Hasegawa G, Obayashi H *és mtsai*: Leukocyte–endothelial cell adhesion molecule 1 (LECAM-1) polymorphism is associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2002; 16: 333–7.
87. Miller MA, Kerry SM, Dong Y *és mtsai*: Association between the Thr715Pro P-selectin gene polymorphism and soluble P-selectin levels in a multiethnic population in South London. *Thromb Haemost* 2004; 92: 1060–5.
88. Mlekusch W, Exner M, Schillinger M *és mtsai*: E-Selectin and restenosis after femoropopliteal angioplasty: prognostic impact of the Ser128Arg genotype and plasma levels. *Thromb Haemost* 2004; 91:171–9.
89. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS *és mtsai*: CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990; 249:1431-3.
90. Medzhitov R: Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001; 1: 135-45.
91. Inohara N, Ogura Y, Nunez G: Nods: a family of cytosolic proteins that regulate the host response to pathogens. *Curr Opin Microbiol* 2002; 5: 76-80.
92. Henneke P, Osmers I, Bauer K *és mtsai*: Impaired CD14-dependent and independent response of polymorphonuclear leukocytes in preterm infants. *J Perinat Med*. 2003;31:176-83.
93. Förster-Waldl E, Sadeghi K, Tamandl D *és mtsai*: Monocyte toll-like receptor 4 expression and LPS-induced cytokine production increase during gestational aging. *Pediatr Res*. 2005; 58:121-4.
94. Bessler H, Komlos L, Punskey I, Ntambi JA, Bergman M, Straussberg R, Sirota L: CD14 receptor expression and lipopolysaccharide-induced cytokine production in preterm and term neonates. *Biol Neonate*. 2001; 80:186-92.
95. Blanco A, Solis G, Arranz E, Coto GD, Ramos A, Telleria J: Serum levels of CD14 in neonatal sepsis by Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Acta Paediatr*. 1996; 85:728-32.
96. Hubacek JA, Pit'ha J, Skodova Z, *és mtsai*: C(-260) T polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. *Circulation* 1999; 99:3218-20.
97. Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC *és mtsai*: TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet* 2000; 25: 187-191.
98. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H *és mtsai*: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603.

99. Lorenz E, Hallman M, Marttila R és mtsai: Association between the Asp299Gly polymorphisms in the Toll-like receptor 4 and premature births in the Finnish population. *Pediatr Res*. 2002; 52:373-6.
100. Ferrand PE, Fujimoto T, Chennathukuzhi V és mtsai: The CARD15 2936insC mutation and TLR4 896 A>G polymorphism in African Americans and risk of preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Mol Hum Reprod*. 2002;8:1031-4.
101. Nobilis András: Az angiotenzin-konvertáz enzim I/D és az angiotenzin II 1-es típusú receptor A1166C polymorphismusok összefüggése a perinatális adaptáció zavaraival kis születési súlyú koraszülötteknél. *PhD értekezés*, Budapest, 2007 (bírálatra benyújtva) Témavezető: Dr. Vásárhelyi Barna.
102. Higuchi S, Ohtsu H, Suzuki H és mtsai: Angiotensin II signal transduction through the AT1 receptor: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin Sci* 2007;112:417-28.
103. Sulyok E, Németh M, Tényi I és mtsai: Postnatal development of renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS, in relation to electrolyte balance in premature infants. *Pediatr Res* 1979; 13:817-20.
104. Varga F, Sulyok E, Nemeth M és mtsai: Activity of the renin-angiotensin-aldosterone system in full-term newborn infants during the first week of life. *Acta Paediatr Acad Sci Hung*. 1981; 22:123-30.
105. Sulyok E. Endocrine factors in the neonatal adaptation. *Acta Physiol Hung*. 1989; 74:329-39.
106. Agerholm-Larsen B, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P és mtsai: ACE gene polymorphism explains 30-40% of variability in serum ACE activity in both women and men in the population at large: the Copenhagen City Heart Study. *Atherosclerosis* 1999; 147: 425-7.
107. Duncan JA, Scholey JW, Miller JA: Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in humans: physiology and pathophysiology of the genotypes. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10:111-116.
108. Sivasli E, Yurdakok M, Babaoglu E és mtsai: ACE gene deletion/deletion polymorphism may be a protective factor for respiratory distress in preterm infants. *Turk J Pediatr*. 2007; 49:69-74.
109. Kazzi SN, Quasney MW. Deletion allele of angiotensin-converting enzyme is associated with increased risk and severity of bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr*. 2005; 147:818-22.
110. Harding D, Dhamrait S, Marlow N és mtsai: Angiotensin-converting enzyme DD genotype is associated with worse perinatal cardiorespiratory adaptation in preterm infants. *J Pediatr*. 2003; 143:746-9.
111. Siffert W, Roskopf D, Siffert G és mtsai: Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet* 1998;1:45-48.
112. Tóth P, Erdei G, Vásárhelyi B: Az in utero magas ösztrogénszint megszűnésének lehetséges hatásai koraszülöttekben. *Orvosi Hetilap*, 2003; 144:1719-24.
113. Vannay Á: A vaszkuláris endoteliális növekedési faktor szintézisének és szerepének vizsgálata hipoxiás állapotokban *PhD értekezés*, Budapest, 2004. Témavezető: Szabó András.

114. Dor Y, Camenisch TD, Itin A és mtsai: A novel role for VEGF in endocardial cushion formation and its potential contribution to congenital heart defects. *Development*. 2001;128:1531-8.
115. Vannay A, Fekete A, Adori C és mtsai: Divergence of renal vascular endothelial growth factor mRNA expression and protein level in post-ischaemic rat kidneys. *Exp Physiol*. 2004; 89:435-44.
116. Watson CJ, Webb NJ, Bottomley MJ, és mtsai: Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine*. 2000; 12:1232-5.
117. Vannay A, Vasarhelyi B, Kornyei M és mtsai: Single-nucleotide polymorphisms of VEGF gene are associated with risk of congenital valvuloseptal heart defects. *Am Heart J*. 2006; 151:878-81.
118. Trotter A, Maier L, Grill HJ és mtsai: Effects of postnatal estradiol and progesterone replacement in extremely preterm infants. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999, 84, 4531-5.
119. Schuit SCE, de Jong FH, Stolk L és mtsai: Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with estradiol levels in postmenopausal women. *Eur J Endocrinol*, 2005; 153: 327–34.
120. Fant ME, Weisoly D: Insulin and insulin-like growth factors in human development: implications for the perinatal period. *Semin Perinatol*. 2001;25:426-35.
121. Hellstrom A, Engstrom E, Hard AL és mtsai: Postnatal serum insulin-like growth factor I deficiency is associated with retinopathy of prematurity and other complications of premature birth. *Pediatrics*. 2003;112:1016-20.
122. Bonafe M, Barbieri M, Marchegiani F és mtsai: Polymorphic variants of insulin-like growth factor I (IGF-1) receptor and phosphoinositide 3-kinase genes affect IGF-1 plasma levels and human longevity: cues for an evolutionarily conserved mechanism of life span control. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3299-304.
123. Fekete Andrea: Nemi különbségek és genetikai faktorok szerepe a vese iszkémiás/reperfusios károsodásában. *PhD értekezés*, Budapest, 2003. Témavezető: Reusz György és Szabó Attila.
124. Favatier F, Bornman L, Hightower LE és mtsai: Variation in HSP gene expression and HSP polymorphism: do they contribute to differential disease susceptibility and stress tolerance? *Cell Stress Chaperones* 1997; 2:141-55.
125. Kalish RB, Vardhana S, Gupta M és mtsai: Polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha gene at position -308 and the inducible 70 kd heat shock protein gene at position +1267 in multifetal pregnancies and preterm premature rupture of fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;191:1368-74.
126. Modi N: Disorders of the kidney and urinary tract. In: Rennie JM, Robertson NR (eds) Textbook of neonatology. Churchill-Livingston, Edinburgh, 1999 , pp 1009-37.
127. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD és mtsai: Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg*. 1978;187:1-7.
128. Dollner H, Vatten L, Linnebo I és mtsai: Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early-onset sepsis. *Biol Neonate* 2001; 80:41-7.

129. Jobe AH, Bancalari E: Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:1723-9.
130. Szalai C, Czinner A, Revai K: The frequency of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase G985 mutation in the Hungarian population. *Eur J Pediatr.* 1996;155:256.
131. Kajantie E, Rautanen A, Kere J és mtsai: The effects of the ACE gene insertion/deletion polymorphism on glucose tolerance and insulin secretion in elderly people are modified by birth weight. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 5738-41.
132. Norwood VF, Fernandez LG, Tufro A és mtsa. Development of the renin-angiotensin system In: Polin RA, Fox WW, Amban SH, editors Fetal and neonatal physiology , 3rd ed Philadelphia: Saunders; 2004;1249-55.
133. Baudin B. Angiotensin II receptor polymorphisms in hypertension. Pharmacogenomic considerations. *Pharmacogenomics.* 2002; 3:65-73.
134. Lipworth BJ, Dagb KD:Vasoconstrictor effects of angiotensin II on the pulmonary vascular bed. *Chest* 1994; 105:1360-4.
135. Tan LM, Sim MK: Actions of angiotensin peptides on the rabbit pulmonary artery. *Life Sci* 2000; 66:1839-47.
136. Krombach RS, Clair MJ, Hendrick JW és mtsai: Angiotensin converting enzyme inhibition, AT1 receptor inhibition, and combination therapy with pacing induced heart failure: effects on left ventricular performance and regional blood flow patterns. *Cardiovasc Res* 1998; 38:631-45.
137. Barr M: Teratogen update: angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Teratology* 1994; 50:399-409.
138. Miller JA, Thai K, Scholey JW. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism predicts response to losartan and angiotensin II. *Kidney Int* 1999; 56:2173-8.
139. Baudin B. Polymorphism in angiotensin II receptor genes and hypertension. *Exp Physiol.* 2005;90:277-82.
140. Stevenson DK, Verter J, Fanaroff AA, és mtsai: Sex differences in outcomes of very low birthweight infants: the newborn male disadvantage. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2000; 83: 182-5.
141. Bidlingmaier F, Strom TM, Dorr HG és mtsai: Estrone and estradiol concentrations in human ovaries, testes, and adrenals during the first two years of life. *J Clin Endocrinol Metab*, 1987; 65: 862-7.
142. Stavrou I, Zois C, Ioannidis JP, és mtsa: Association of polymorphisms of the oestrogen receptor alpha gene with the age of menarche. *Hum Reprod*, 2002; 17: 1101-5.
143. Wang CL, Tang XY, Chen WQ és mtsai: Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density in Chinese women: a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2007;18:295-305.
144. Salmen T, Heikkinen AM, Mahonen A és mtsai: Early postmenopausal bone loss is associated with PvuII estrogen receptor gene polymorphism in Finnish women: effect of hormone replacement therapy. *J Bone Miner Res*, 2000; 15: 315-21.

145. Ho AY, Yeung SS, Kung AW: PvuII polymorphisms of the estrogen receptor alpha and bone mineral density in healthy southern Chinese women. *Calcif Tissue Int*, 2000; 66: 405-8.
146. David JC, Tanguay RM, Grognet JF: Perinatal expression of heat shock proteins HSC 70 and HSP 70 in neural and non-neural tissues of the piglet. *Brain Res Dev Brain Res* 2001; 128:91-9.
147. Speer CP: New Insights into the Pathogenesis of Pulmonary Inflammation in Preterm Infants. *Biol Neonate* 2001; 79: 205-9.
148. Baier RJ, Loggins J, Yanamandra K: IL-10, IL-6 and CD14 polymorphisms and sepsis outcome in ventilated VLBW infants. *BMC Med* 2006; 4: 10.
149. Ahrens P, Kattner E, Kohler B és mtsai: Mutations of genes involved in the innate immune system as predictors of sepsis in very low birth weight infants. *Pediatr Res* 2004; 55: 652-6.
150. Krueger M, Nauck MS, Sang S és mtsai: Cord blood levels of interleukin-6 and interleukin-8 for the immediate diagnosis of early-onset infection in premature infants. *Biol Neonate* 2001;80:118-23.
151. Fang XM, Schroder S, Hoeft A, és mtsa: Comparison of two polymorphisms of the interleukin-1 gene family: interleukin-1 receptor antagonist polymorphism contributes to susceptibility to severe sepsis. *Crit Care Med*. 1999; 27:1330-4.
152. Harding D, Dhamrait S, Millar A és mtsai: Is interleukin-6 -174 genotype associated with the development of septicemia in preterm infants? *Pediatrics*. 2003; 112:800-3.
153. Weitkamp JH, Stuber F, Bartmann P: Pilot study assessing TNF gene polymorphism as a prognostic marker for disease progression in neonates with sepsis. *Infection* 2000; 28:92-6.
154. Schueller AC, Heep A, Kattner E és mtsai: Prevalence of two tumor necrosis factor gene polymorphisms in premature infants with early onset sepsis. *Biol Neonate*. 2006; 90:229-32.
155. Hedberg CL, Adcock K, Martin J és mtsai: Tumor necrosis factor alpha - 308 polymorphism associated with increased sepsis mortality in ventilated very low birth weight infants. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 424-8.
156. Esmon CT: Possible involvement of cytokines in diffuse intravascular coagulation and thrombosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*. 1999; 12:343-59.
157. Vizi ES, Szelenyi J, Selmeczy ZS és mtsai: Enhanced tumor necrosis factor-alpha-specific and decreased interleukin-10-specific immune responses to LPS during the third trimester of pregnancy in mice. *J Endocrinol*. 2001; 171:355-61.
158. Chevalier RL: Developmental renal physiology of the low birth weight pre-term newborn. *J Urol* 1996; 156 (2S): 714-9.
159. Weismann DN, Herrig JE, McWeeny OJ és mtsai: Renal and adrenal responses to hypoxemia during angiotensin-converting enzyme inhibition in lambs. *Circ Res* 1983; 52: 179-87.
160. Mattioli L, Zakheim RM, Mullis K, és mtsa: Angiotensin-I-converting enzyme activity in idiopathic respiratory distress syndrome of the newborn infant and in experimental alveolar hypoxia in mice. *J Pediatr* 1975; 87: 97-101.

161. Kang DH, Hughes J, Mazzali M és mtsai: Impaired angiogenesis in the remnant kidney model: II. Vascular endothelial growth factor administration reduces renal fibrosis and stabilizes renal function. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1448-57.
162. Ozer EA, Yilmaz O, Akhisaroglu M és mtsai: Heat shock protein 70 expression in neonatal rats after hypoxic stress. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002; 12:112-7.
163. Gaudio KM, Thulin G, Mann A és mtsai: Role of heat stress response in the tolerance of immature renal tubules to anoxia. *Am J Physiol* 1998; 43: F1029-36.
164. Vicencio A, Bidmon B, Ryu J és mtsai: Developmental expression of HSP-72 and ischemic tolerance of the immature kidney. *Pediatr Nephrol* 2003;18:85–91.
165. Van Why SK, Hildebrandt F, Ardito T és mtsai: Induction and intracellular localization of HSP-72 after renal ischemia. *Am J Physiol* 1992;263:F769-75.
166. Kelly KJ, Baird NR, Greene AL: Induction of stress response proteins and experimental renal ischemia/reperfusion. *Kidney Int* 2001; 59:1798-802.
167. Bolla MK, Miller GJ, Yellon DM és mtsai: Analysis of the association of a heat shock protein 70-1 gene promoter polymorphism with myocardial infarction and coronary risk traits. *Dis Markers* 1998; 13:227-35.
168. Poli F, Boschiero L, Giannoni F és mtsai: Tumour necrosis factor- α gene polymorphism: implications in kidney transplantation. *Cytokine* 2000; 12:1778-83.
169. Hahn AB, Kasten-Jolly JC, Constantino DM és mtsai: TNF α , IL-6, IFN- γ , and IL-10 gene expression polymorphisms and the IL-4 receptor α -chain variant Q576R: effects on renal allograft outcome. *Transplantation* 2001; 72:660-5.
170. Poole KL, Gibbs PJ, Evans PR és mtsai: Influence of patient and donor cytokine genotypes on renal allograft rejection: evidence from a single centre study. *Transpl Immunol* 2001; 8:259-65.
171. Tan X, Hsueh W, Gonzalez-Crussi F: Cellular localization of tumor necrosis factor (TNF)- α transcripts in normal bowel and in necrotizing enterocolitis. TNF gene expression by Paneth cells, intestinal eosinophils, and makrofáges. *Am J Pathol* 1993;142, 1858-65.
172. Niessner M, Volk BA: Phenotypic and immunoregulatory analysis of intestinal T-cells in patients with inflammatory bowel disease: evaluation of an in vitro model. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 155-64.
173. Jansen JH, Wientjens GJ, Fibbe WE és mtsai: Inhibition of human makrofáge colony formation by interleukin 4. *J Exp Med* 1989; 170, 577-82.
174. Crawford RM, Finbloom DS, Ohara J és mtsai: B cell stimulatory factor-1 (interleukin 4) activates makrofáges for increased tumoricidal activity and expression of Ia antigens. *J Immunol* 1987; 139: 135-41.
175. Schreiber S, Heinig T, Panzer U és mtsai: Impaired response of activated mononuclear phagocytes to interleukin 4 in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995; 108: 21-33.
176. MacDermott RP: Alterations of the mucosal immune system in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol.* 1996; 31:907-16.

177. Kmiec Z: Cytokines in inflammatory bowel disease. *Arch Immunol Ther Exp.* 1998;46:143-55.
178. Nadler EP, Dickinson E, Knisely A és mtsai: Expression of inducible nitric oxide synthase and interleukin-12 in experimental necrotizing enterocolitis. *J Surg Res.* 2000; 92:71-7.
179. Marodi L: Down-regulation of Th1 responses in human neonates. *Clin Exp Immunol.* 2002; 128:1-2.
180. Claud EC, Walker WA: Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *FASEB J* 2001; 15: 1398-403.
181. Caplan MS, MacKendrick W: Necrotizing enterocolitis: a review of pathogenetic mechanisms and implications for prevention. *Pediatr Pathol* 1993; 13: 357-69.
182. Ewer AK, Al-Salti W, Coney AM és mtsai: The role of platelet activating factor in a neonatal piglet model of necrotising enterocolitis. *Gut* 2004; 53: 207-13.
183. Jones MK, Tomikawa M, Mohajer B és mtsai: Gastrointestinal mucosal regeneration: role of growth factors. *Front Biosci.* 1999;4:D303-9 .
184. Murohara T, Horowitz JR, Silver M és mtsai: Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation* 1998; 97: 99-107.
185. Hunter JC, Kostyak JC, Novotny JL és mtsai: Estrogen deficiency decreases ischemic tolerance in the aged rat heart: Roles of PKCdelta, PKCepsilon, Akt, and GSK3beta. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007; 292:R800-9.
186. Shinohara T, Takahashi N, Ooie T és mtsai: Estrogen inhibits hyperthermia-induced expression of heat-shock protein 72 and cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in female rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2004; 37:1053-61.
187. Jobe AH, Ikegami M: Mechanisms initiating lung injury in the preterm. *Early Hum Dev.* 1998; 53:81-94.
188. Kim BI, Lee HE, Choi CW és mtsai: Increase in cord blood soluble E-selectin and tracheal aspirate neutrophils at birth and the development of new bronchopulmonary dysplasia. *J Perinat Med,* 2004; 32: 282-7.
189. Koehne PS, Wagner MH, Willam C és mtsai: Soluble intercellular cell adhesion molecule-1 and L-selectin plasma concentrations and response to surfactant in preterm infants. *Pediatr Crit Care Med,* 2002; 3: 23-8.
190. Dexter SC, Malee MP, Pinar H és mtsai: Influence of chorioamnionitis on developmental outcome in very low birth weight infants. *Obstet Gynecol* 1999;94:267-73.
191. Bracci R, Buonocore G: Chorioamnionitis: a risk factor for fetal and neonatal morbidity. *Biol Neonate* 2003;83:85-96.
192. Kazzi SN, Kim UO, Quasney MW, és mtsai: Polymorphism of tumor necrosis factor-alpha and risk and severity of bronchopulmonary dysplasia among very low birth weight infants. *Pediatrics* 2004;114:e243-8.
193. Adcock K, Hedberg C, Loggins J és mtsai: The TNF-alpha -308, MCP-1 -2518 and TGF-beta1 +915 polymorphisms are not associated with the

- development of chronic lung disease in very low birth weight infants. *Genes Immun* 2003;4:420-6.
194. Bont L, Heijnen CJ, Kavelaars A és mtsai: Local interferon-gamma levels during respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection are associated with disease severity. *J Infect Dis* 2001;184:355-8.
 195. Ruiz-Ortega M, Ruperez M, Lorenzo O és mtsai: Angiotensin II regulates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines in the kidney. *Kidney Int Suppl* 2002;82:12-22.
 196. Guba M, Steinbauer M, Buchner M, és mtsai: Differential effects of short-term ace-and AT1-receptor inhibition on postischemic injury and leukocyte adherence in vivo and in vitro. *Shock* 2000;13:190-6.
 197. Bland RD: Neonatal chronic lung disease in the post-surfactant era. *Biol Neonate* 2005;88:181-91.
 198. Thebaud B. Angiogenesis in lung development, injury and repair: implications for chronic lung disease of prematurity. *Neonatology*. 2007;91:291-7.
 199. Derzbach L, Treszl A, Bokodi G és mtsa. Estrogen receptor polymorphism and retinopathy of prematurity <http://www.iovs.org/cgi/eletters/43/6/2007>.
 200. Csak K, Szabo V, Szabo A és mtsa: Pathogenesis and genetic basis for retinopathy of prematurity. *Front Biosci*. 2006;11:908-20.
 201. Awata T, Inoue K, Kurihara S és mtsai: A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51:1635-9.
 202. Cooke RW, Drury JA, Mountford R és mtsai: Genetic polymorphisms and retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45:1712-5.
 203. Shastry BS, Qu X: Lack of association of the VEGF gene promoter (-634 G-->C and -460 C-->T) polymorphism and the risk of advanced retinopathy of prematurity. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007; 245:741-3.
 204. Li LY, Barlow KD, Metheny-Barlow LJ: Angiopoietins and Tie2 in health and disease. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2005;2:399-408.
 205. Smith LE, Kopchick JJ, Chen W és mtsai: Essential role of growth hormone in ischemia-induced retinal neovascularization. *Science* 1997; 276: 1706-9.
 206. Smith LE, Shen W, Perruzzi C és mtsai: Regulation of vascular endothelial growth factor-dependent retinal neovascularization by insulin-like growth factor-1 receptor. *Nat Med* 1999; 5: 1390-5 .
 207. Miyamoto N, Mandai M, Takagi H és mtsai: Contrasting effect of estrogen on VEGF induction under different oxygen status and its role in murine ROP. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002; 43:2007-14.
 208. Campochiaro PA. Retinal and choroidal neovascularization. *J Cell Physiol*. 2000; 184:301-10.
 209. Powell JA, Mohamed SN, Kerr JS, és mtsa: Antiangiogenesis efficacy of nitric oxide donors. *J Cell Biochem*. 2000; 80:104-14.
 210. Ando A, Yang A, Mori K és mtsai: Nitric oxide is proangiogenic in the retina and choroid. *J Cell Physiol*. 2002; 191:116-24.
 211. Awata T, Neda T, Iizuka H és mtsai: Endothelial nitric oxide synthase gene is associated with diabetic macular edema in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27:2184-90.

212. de Syllos RW, Sandrim VC, Lisboa HR és mtsai: Endothelial nitric oxide synthase genotype and haplotype are not associated with diabetic retinopathy in diabetes type 2 patients. *Nitric Oxide*. 2006; 15:417-22.
213. Taverna MJ, Sola A, Guyot-Argenton C és mtsai: eNOS4 polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase predicts risk for severe diabetic retinopathy. *Diabet Med*. 2002; 19:240-5.
214. Taverna MJ, Elgrably F, Selmi H és mtsai: The T-786C and C774T endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms independently affect the onset pattern of severe diabetic retinopathy. *Nitric Oxide*. 2005; 13:88-92.
215. Fekete A, Vér A, Bögi K és mtsai: Is preeclampsia associated with higher frequency of HSP70 gene polymorphisms? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2006;126:197-200.
216. Genbacev OD, Prakobphol A, Foulk RA és mtsai: Trophoblast L-selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal interface. *Science*. 2003;299:405-8.
217. Zeisler H, Livingston JC, Schatten C és mtsai: Serum levels of adhesion molecules in women with pregnancy-induced hypertension. *Wien Klin Wochenschr* 2001;113:588-92.
218. Banyasz I, Szabo S, Bokodi G és mtsai: Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod*. 2006;12:233-6.
219. Derzbach L, Balogh Á, Bokodi G és mtsai: The Ser128Arg E-selectin and Thr715Pro P-selectin polymorphisms and severe preeclampsia. *Int J Gynecol Obstet*, in press.
220. Breiman L Random forests. *Machine Learning* 2001;45:5–32.
221. http://www.stat.berkeley.edu/~breiman/RandomForests/cc_software.htm.
222. R Development Core Team 2006 R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
223. Hothorn T, Hornik K, Zeileis A: [<http://CRAN.R-project.org/>] party: A Laboratory for Recursive Part(y)itioning. 2006. [R package version 0.9-0].
224. Diaz-Uriarte R, Alvarez de Andres S. Gene selection and classification of microarray data using random forest. *BMC Bioinformatics* 2006; 7:3.
225. Heidema AG, Boer JM, Nagelkerke N és mtsai: The challenge for genetic epidemiologists: how to analyze large numbers of SNPs in relation to complex diseases. *BMC Genet*. 2006 ; 21:7-23.
226. Barker DJ: Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 1995; 311:171-4.
227. Barker DJ, Hales CN, Fall CH és mtsai: Type 2 diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidemia (syndrome X): Relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 1993;36:62-7.
228. Vásárhelyi B, Dobos M, Reusz GS és mtsai: Normal kidney function and elevated natriuresis in young men born with low birth weight. *Ped Nephrol*, 2000; 15: 96-100.
229. Tulassay T, Vásárhelyi B: Birthweight and renal function, *Curr Opin Nephrol*, 2002,11:347-52.
230. Szathmári M, Vásárhelyi B, Tulassay T: Effect of low birth weight on adrenal steroids and carbohydrate metabolism in early adulthood. *Horm Res* 2001;55:172-8.

231. Bardóczy Zs, Kocsis I, Treszl A és mtsai: Association of endogenous dehydroepiandrosterone-sulfate levels with bone turnover parameters in healthy young adults born with low birth weight. *J Bone Miner Metab*, 2005; 23: 483-87.
232. Szathmári M, Vászárhelyi B, Szabó M és mtsai: Higher osteocalcin levels and cross-links excretion in young men born with low birth weight. *Calcified Tissue Int* 2000; 67: 429-33.
233. Vászárhelyi B, Bencsik P, Treszl A és mtsai: The effect of physiologic hyperinsulinemia during an oral glucose tolerance test on the levels of dehydroepiandrosterone (DHEA) and its sulfate (DHEAS) in healthy young adults born with low and with normal birth weight. *Endocrine J*, 2003;50:689-95.
234. Chen HY, Cui B, Wang S és mtsai: L-selectin gene polymorphisms in Graves' disease. *Clin Endocrinol*. 2007; 67:145-51.
235. Buraczynska M, Ksiazek P, Baranowicz-Gaszczyk I, és mtsa: Association of the VEGF gene polymorphism with diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22:827-32.
236. Young HS, Summers AM, Read IR és mtsai: Interaction between genetic control of vascular endothelial growth factor production and retinoid responsiveness in psoriasis. *J Invest Dermatol*. 2006; 126:453-9.
237. van der Meer P, De Boer RA, White HL és mtsai: The VEGF +405 CC promoter polymorphism is associated with an impaired prognosis in patients with chronic heart failure: a MERIT-HF substudy. *J Card Fail*. 2005;11:279-84.

Az értekezés alapját képező közlemények adatai (másolatot a Melléklet tartalmaz)

Perinatális adaptációs zavarok és génpolymorphismusok

Vizsgálatok:

- I. Treszl A, Szabó M, Dunai Gy, Nobilis A, Machay T, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: Angiotensin II type 1 receptor A1166C polymorphism and prophylactic indomethacin treatment induced ductus arteriosus (DA) closure in very low birth weight neonates. Ped Res, 2003;54:753-755.
- II. Nobilis A, Szabó M, Kocsis I, Sulyok E, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: Angiotensin-converting enzyme DD genotype is preventive against circulatory failure in very low-birth-weight neonates, Acta Paediatrica, 2006; 95:747-750
- III. Derzbach L, Treszl A, Vannay Á, Balogh Á, **Vásárhelyi B**, Tulassay T, Rigó J: Gender dependent association between perinatal morbidity and estrogen receptor- α PvuII polymorphism Journal of Perinatal Medicine 2005; 33:461-462.
- IV. Derzbach L, Bokodi G, Treszl A, **Vásárhelyi B**, Nobilis A, Rigó J: Selectin polymorphisms and perinatal morbidity in low birth weight infants Acta Paediatrica, 2006;95:1213-1217
- V. Bányász I, Bokodi G, **Vásárhelyi B**, Treszl A, Derzbach L, Szabó A, Tulassay T, Vannay Á: Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in perinatal complications. European Cytokine Network, 2006;17:266-270

Eredeti adatot tartalmazó levelek

- VI. Balogh A, Treszl A, Vannay A, **Vásárhelyi B**. A prevalent functional polymorphism of insulin-like growth factor system is not associated with perinatal complications in preterm infants. Pediatrics. 2006;117:591-592
- VII. **Vásárhelyi B.**, Kocsis I., Schuler Á., Nobilis A., Tulassay T: G protein in very low birth weight infants Lancet 2000; 356: 254

Sepsis

- VIII. Treszl A, Kocsis I, Szathmári M, Schuler Á, Héninger E, Tulassay T, **Vásárhelyi B** : Genetic variants of TNF- α , IL-1 β , IL-4 receptor α -chain, IL-6 and IL-10 genes are not risk factors for sepsis in low birth weight infants Biology of the Neonate, 2003;83:241-245

Akut veseelégtelenség

- IX. **Vásárhelyi B**, Tóth-Heyn P, Treszl A, Tulassay T. Genetic polymorphisms and risk for acute renal failure in preterm neonates. Mini-review. Pediatric Nephrology 2005;20:132-135.

- X. Nobilis A, Kocsis I, Tóth-Heyn P, Treszl A, Schuler A, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: Variance of ACE and AT1 receptor gene do not influence the risk of neonatal acute renal failure, *Pediatric Nephrology*, 2001;16:1063-1066
- XI. Treszl A, Tóth-Heyn P, Kocsis I, Nobilis A, Schuler Á, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: Interleukin genetic variants and the risk of renal failure in infants with infection . *Pediatric Nephrology* 2002;17:713-717.
- XII. Fekete A, Treszl A, Tóth-Heyn P, Vannay A, Tordai A, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: Association between heat shock protein 72 gene polymorphism and acute renal failure in premature neonates. *Pediatric Research* 2003 54: 452-455

Enterocolitis necrotisans

- XIII. Treszl A, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: Genetic basis for necrotizing enterocolitis – risk factor and their relations to genetic polymorphisms. *Frontiers in Biosciences* 2006;11:570-580
- XIV. Treszl A, Kocsis I, Szathmári M, Schuler Á, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: Genetic variants of the tumor necrosis factor-alpha promoter gene do not influence the development of necrotizing enterocolitis *Acta Paediatrica* 2001;90:1182-1185.
- XV. Héninger E, Treszl A, Kocsis I, Tulassay T, Dérfalvi B, **Vásárhelyi B**: Genetic variants of interleukin-18 promoter region (-607) influence the course of necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *European Journal of Pediatrics*, 2002; 161:410-411
- XVI. Treszl A, Héninger E, Kálmán A, Schuler Á, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: Lower prevalence of IL-4 receptor α -chain gene ¹⁹⁰²G variant in very low birth weight infants with necrotizing enterocolitis. *Journal of Pediatric Surgery*, 2003; 38: 1374-1377
- XVII. Szebeni B, Szekeres R, Rusai K, Vannay Á, Veres G, Treszl A, Arató A, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: Genetic polymorphisms of CD14, toll-like receptor 4, and caspase-recruitment domain 15 are not associated with necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Journal Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2006; 42: 27-31

Bronchopulmonaris dysplasia

- XVIII. Bokodi G, Treszl A, Kovács L, Tulassay T, **Vásárhelyi B**. Dysplasia: A review. *Pediatric Pulmonology*. 2007; 42 :952-961
- XIX. Bokodi G, Treszl A, Derzbach L, Balogh Á, **Vásárhelyi B** The association of the carrier state of the tumor necrosis factor-alpha (TNFalpha) (-308)A allele with the duration of oxygen supplementation in preterm neonates. *European Cytokine Network*, 2005;16:78-80.
- XX. Bokodi G, Derzbach L, Bányász I, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: The association of interferon.gamma T+874A and interleukin-12 p40 promoter CTCTAA/GC polymorphism with the need for respiratory support and perinatal complications in low birth weight neonates. *Archives of Diseases in Childhood*, 2007; 92: F25-29

Eredeti adatot tartalmazó levél

- XXI. Bokodi G, Derzbach L, **Vásárhelyi B**: Deletion allele of angiotensin-converting enzyme Journal of Pediatrics, 2006;149:579.

Retinopathia prematurorum

- XXII. Vannay Á, Dunai Gy, Bányász I, Szabó M, Vámos R, Treszl A, Tulassay T, **Vásárhelyi B**. Association of genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and risk for proliferative retinopathy of prematurity. Pediatric Research 2005;57:396-398.
- XXIII. Balogh Á, Derzbach L, Vannay Á, **Vásárhelyi B**: Lack of association between insulin-like growth factor I receptor G+3174A polymorphism and retinopathy of prematurity Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology, 2005; 14: 1-4.
- XXIV. Bányász I, Bokodi G, Vannay Á, Szebeni B, Treszl A, **Vásárhelyi B**, Tulassay T, Szabó A: Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and angiopoietin 2 in retinopathy of prematurity. Current Eye Research. 2006;31:685-90
- XXV. Rusai K, Vannay Á, Szebeni B, Borgulya G, Fekete A, **Vásárhelyi B**, Tulassay T, Szabó AJ: Endothelial nitric oxide synthase gene T-786C and 27-bp repeat gene polymorphisms in retinopathy of prematurity, Molecular Vision, in press

Adataink áttekintő elemzése

- XXVI. Treszl A, Kaposi A, Hajdú J, Szabó M, Tulassay T, **Vásárhelyi B**: The extent that genotype information may add to the prediction of disturbed perinatal adaptation: none, minor or major? Pediatric Research, in press PMID: 17805198

Saját közlemények listája

Impakt faktor:

2007 és *in press*

1. Treszl A, Kaposi A, Hajdú J, Szabó M, Tulassay T, Vásárhelyi B: The extent that genotype information may add to the prediction of disturbed perinatal adaptation: none, minor or major? *Pediatric Research* PMID: 17805198 2,875
2. Rusai K, Vannay Á, Szebeni B, Borgulya G, Fekete A, Vásárhelyi B, Tulassay T, Szabó AJ: Endothelial nitric oxide synthase gene T-786C and 27-bp repeat gene polymorphisms in retinopathy of prematurity, *Molecular Vision*, in press 2,239
3. Pászthy B, Švec P, Vásárhelyi B, Túry F, Mazzag J, Tulassay T, Treszl A: Investigation of regulatory T cells in anorexia nervosa, *European Journal of Clinical Nutrition*, 2007 Feb 7. 2,163
4. Svec P, Vásárhelyi B, Pászthy B, Körner A, Kovács L, Tulassay T, Treszl A: Do regulatory T cells contribute to Th1 skewness in obesity? *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes, Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2007;115:439-443. 1,367
5. Bokodi G, Derzbach L, Bányász I, Tulassay T, Vásárhelyi B: The association of interferon.gamma T+874A and interleukin-12 p40 promoter CTCTAA/GC polymorphism with the need for respiratory support and perinatal complications in low birth weight neonates. *Archives of Diseases in Childhood*, 2007;92:F25-29 1,787
6. Bokodi G, Treszl A, Kovacs L, Tulassay T, Vasarhelyi B. Dysplasia: A review. *Pediatric Pulmonology*. 2007;42:952-961 n.a.
7. Róka A, Vásárhelyi B, Bodrogi E, Machay T, Szabó M. Changes in laboratory parameters indicating cell necrosis and organ dysfunction in asphyxiated neonates on moderate systemic hypothermia., *Acta Paediatrica*, 2007; 96:1118-21 1,277
8. Balogh Á, Szabó M, Kelen D, Bokodi G, Prechl J, Bósze Sz, Vásárhelyi B: Prohepcidin levels during human perinatal adaptation, *Pediatric Hematology and Oncology* , 2007;24:361-8. 0,532
9. Szebeni B, Veres G, Dezsöfi A, Rusai K, Vannay A, Bokodi G, Vasarhelyi B, Korponay-Szabo IR, Tulassay T, Arató A. Increased mucosal expression of Toll-like receptor (TLR)2 and TLR4 in coeliac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2007;45:187-193 2,077
10. Pászthy B, Svec P, Tury F, Kovacs L, Vasarhelyi B, Tulassay T, Treszl A. Impact of anorexia nervosa on activation characteristics of lymphocytes. *Neuro Endocrinol Lett*. 2007; PMID: 17693974 n.a.

2006

11. Treszl A, Tulassay T, Vásárhelyi B: Genetic basis for necrotizing enterocolitis – risk factor and their relations to genetic polymorphisms. *Frontiers in Bioscience* 2006;11:570-580 2,623
12. Szebeni B, Szekeres R, Rusai K, Vannay Á, Veres G, Treszl A, Arató A, Tulassay T, Vásárhelyi B: Genetic polymorphisms of CD14, toll-like receptor 4, and caspase-recruitment domain 15 are not associated with necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*., 2006;42:27-31 2,077
13. Nobilis A, Szabó M, Kocsis I, Sulyok E, Tulassay T, Vásárhelyi B: Angiotensin-converting enzyme DD genotype is preventive against circulatory failure in very 1,277

low-birth-weight neonates, *Acta Paediatrica*, 2006; 95:747-750

14. Derzbach L, Bokodi G, Treszl A, Vásárhelyi B, Nobilis A, Rigó J: Selectin polymorphisms and perinatal morbidity in low birth weight infants *Acta Paediatrica*, 2006;95:1213-1217. 1,277
15. Bányász I, Bokodi G, Vannay Á, Szebeni B, Treszl A, Vásárhelyi B, Tulassay T, Szabó A: Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and angiopoietin 2 in retinopathy of prematurity. *Current Eye Research* 2006;31:685-690. 1,116
16. Bányász I, Bokodi G, Vásárhelyi B, Treszl A, Derzbach L, Szabó A, Tulassay T, Vannay Á: Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in perinatal complications. *European Cytokine Network*, 2006;17:266-270 1,073
17. Vásárhelyi B, Cseh Á, Kocsis I, Treszl A, Györffy B, Rigó J: Three mechanisms in the pathogenesis of pre-eclampsia suggested by over-represented transcription factor-binding sites detected with comparative promoter analysis. *Molecular Human Reproduction*, 2006; 12: 31-34 3,191
18. Bányász I, Szabó Sz, Bokodi G, Vannay Á, Vásárhelyi B, Szabó A, Tulassay T, Rigó J: Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe pre-eclampsia *Molecular Human Reproduction*, 2006;12:233-236. 3,191
19. Rigó J, Böze T, Derzsy Z, Derzbach L, Treszl A, Sober S, Vásárhelyi B: Family history of early-onset cardiovascular disorders is associated with risk of preeclampsia *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproduction Biology*, 2006;128:148-151. 1,141
20. Vannay Á, Vásárhelyi B, Környei M, Treszl A, Kozma G, Tulassay T, Sulyok E: Single nucleotide polymorphisms of VEGF gene are associated with risk of congenital valvuloseptal heart defects, *American Heart Journal*, 2006;151:878-881 3,552
21. Györffy A, Vásárhelyi B, Szőke D, Dietel M, Tulassay T, Györffy B: Comparative promoter analysis of doxorubicin resistance associated genes suggests e47 as a key regulatory element, *Anticancer Research*, 2006;26:2971-2976. 1,604

2005

22. Vannay Á, Dunai Gy, Bányász I, Szabó M, Vámos R, Treszl A, Tulassay T, Vásárhelyi B. Association of genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and risk for proliferative retinopathy of prematurity. *Pediatric Research* 2005;57:396-398. 2,875
23. Vásárhelyi B, Tóth-Heyn P, Treszl A, Tulassay T. Genetic polymorphisms and risk for acute renal failure in preterm neonates. Mini-review. *Pediatric Nephrology* 2005;20:132-135. 1,620
24. Balogh Á, Derzbach L, Vannay Á, Vásárhelyi B: Lack of association between insulin-like growth factor I receptor G+3174A polymorphism and retinopathy of prematurity *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2005; 14: 1-4. 1,498
25. Bokodi G, Treszl A, Derzbach L, Balogh Á, Vásárhelyi B The association of the carrier state of the tumor necrosis factor-alpha (TNFalpha) (-308)A allele with the duration of oxygen supplementation in preterm neonates. *European Cytokine Network*, 2005;16:78-80. 1,073
26. Derzbach L, Treszl A, Vannay Á, Balogh Á, Vásárhelyi B, Tulassay T, Rigó J: Gender dependent association between perinatal morbidity and estrogen receptor-α PvuII polymorphism *Journal of Perinatal Medicine* 2005; 33:461-462. 0,899

27. Bardóczy Zs, Kocsis I, Treszl A, Tulassay T, Vásárhelyi B, Szathmári M: 1,464
Independent effect of endogenous dehydroepiandrosterone-sulphate levels and
birth weight on bone turnover parameters in young adults J Bone Miner Metab,
2005; 23: 483-487

28. Liptai Z, Mihály I, Kulcsár A, Barsi P, Vásárhelyi B, Kocsis I. Bilateral striatal 1,377
lesion associated with varicella. Neuropediatrics. 2005;36(2):117-119.

2004

29. Kocsis I, Vásárhelyi B, Györfly A, Györfly B: Reanalysis of genotype 5,973
distributions published in *Neurology* between 1999 and 2002, *Neurology*,
2004;63:357-358.

30. Vannay A, Fekete A, Ádori C, Tóth T, Losonczy G, László L, Vásárhelyi B, 1,833
Tulassay T, Szabó A. Divergence of renal VEGF mRNA expression and protein
level in postischemic rat kidneys. *Experimental Physiology*. 2004; 89:435-444.

31. Ujhelyi R, Treszl A, Vásárhelyi B, Holics K, Tóth M, Arató A, Tulassay T, 1,764
Tulassay Z, Szathmári M. Bone mineral density and factors influencing bone
acquisition in cystic fibrosis during childhood and early adulthood: a follow-up
study; *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2004; 38:401-406

32. Szőnyi L, Dobos M, Vásárhelyi B, Héninger E, Vas T, Nagy J, Kovács T: 1,316
Prevalence of alpha-1 antitrypsin phenotypes in patients with IgA nephropathy,
Clinical Nephrology 2004; 62: 418-423.

2003

33. Fekete A, Vannay Á, Vér Á, Vásárhelyi B, Müller V, Ouyang N, Reusz G, 4,346
Tulassay T, Szabó AJ: Sex differences in heat shock protein 72 expression and
localization in rats following renal ischemia-reperfusion injury.; *Journal of*
Physiology 2004;555:471-480.

34. Treszl A, Szabó M, Dunai Gy, Nobilis A, Machay T, Tulassay T, Vásárhelyi B: 3,064
Angiotensin II type 1 receptor A1166C polymorphism and prophylactic
indomethacin treatment induced ductus arteriosus (DA) closure in very low birth
weight neonates. *Pediatric Research*, 2003;54:753-755.

35. Fekete A, Treszl A, Tóth-Heyn P, Vannay A, Tordai A, Tulassay T, Vásárhelyi B: 3,064
Association between heat shock protein 72 gene polymorphism and acute renal
failure in premature neonates. *Pediatric Research* 2003 54: 452-455.

36. Treszl A, Héninger E, Kálmán A, Schuler Á, Tulassay T, Vásárhelyi B: Lower 1,449
prevalence of IL-4 receptor α -chain gene ¹⁹⁰²G variant in very low birth weight
infants with necrotizing enterocolitis. *Journal of Pediatric Surgery*, 2003;38:1374-
1378

37. Treszl A, Kocsis I, Szathmári M, Schuler Á, Héninger E, Tulassay T, Vásárhelyi B 1,179
: Genetic variants of TNF- α , IL-1 β , IL-4 receptor α chain, IL-6 and IL-10 genes
are not risk factors for sepsis in low birth weight infants *Biology of the Neonate*,
2003;83:241-245.

38. Szathmári M, Treszl A, Vásárhelyi B: Left ventricular mass index and ventricular 2,767
septum thickness are associated with serum dehydroepiandrosterone-sulphate
(DHEAS) levels in hypertensive women, *Clinical Endocrinology*, 2003;59:110-
114.

39. Vásárhelyi B, Bencsik P, Treszl A, Bardóczy Zs, Tulassay T, Szathmári M: The effect of physiologic hyperinsulinemia during an oral glucose tolerance test on the levels of dehydroepiandrosterone (DHEA) and its sulfate (DHEAS) in healthy young adults born with low and with normal birth weight, *Endocrine Journal*, 2003;50:689-695. 1,608
 40. Deák B, Dobos M, Kocsis I, Krikovszky D, Tordai A, Madácsy L, Tulassay T, Vásárhelyi B: HbA1c levels and erythrocyte transport functions in complication-free type I diabetic children and adolescents, *Acta Diabetologica*, 2003; 40:9-13 0,811
- 2002**
41. Treszl A, Tóth-Hejn P, Kocsis I, Nobilis A, Schuler Á, Tulassay T, Vásárhelyi B: Interleukin genetic variants and the risk of renal failure in infants with infection. *Pediatric Nephrology* 2002;17:713-717. 1,420
 42. Tulassay T, Vásárhelyi B: Birthweight and renal function, *Current Opinion in Nephrology*, 2002,11:347-352. 3,088
 43. Krikovszky D, Vásárhelyi B, Tóth-Hejn P, Körner A, Tulassay T, Madácsy L: Association between G-308A polymorphism of the tumour necrosis factor- α gene and twenty-four-hour ambulatory blood pressure values in type 1 diabetic adolescents. *Clinical Genetics*, 2002; 62:474-7. 2,237
 44. Györfly B, Vásárhelyi B, Krikovszky D, Madácsy L, Tordai A, Tulassay T, Szabó A: Gender-specific association of vitamin D receptor polymorphism combinations with type 1 diabetes mellitus. *European Journal of Endocrinology*, 2002;147:803-808. 2,560
 45. Bari F, Lazics K, Domoki F, Agárdi Sz, Pelikán Sz, Vásárhelyi B, Temesvári P: Unaltered cerebral Na⁺,K⁺-ATPase activity after hypoxic/ischemic injury in piglets *Neuroscience Letters* 2002, 329:189-192. 2,100
 46. Kocsis I, Arató A, Bodánszky H, Szőnyi L, Szabó A, Tulassay T, Vásárhelyi B: Short-term omeprazole treatment does not influence biochemical parameters of bone turnover in children, *Calcified Tissue International*, 2002;71:129-132 2,053
 47. Szathmári M, Vásárhelyi B, Treszl A, Tulassay T, Tulassay Zs: Association of dehydroepiandrosterone-sulphate and testosterone deficiency with bone turnover in men with inflammatory bowel disease. *International Journal of Colorectal Diseases*, 2002; 17:63-66 1,902
 48. Viklický O, Hubáček JA, Heemann UW, Vásárhelyi B, Vítko S, Kohnle M, Teplan V, Lácha J, Szabó AJ: G-protein beta 3 subunit and eNOS gene polymorphism in transplant recipients. *Kidney and Blood Pressure Research* 2002; 25:245-249. 0,968
- 2001**
49. Szathmári M, Vásárhelyi B, Tulassay T : Effect of low birth weight on adrenal steroids and carbohydrate metabolism in early adulthood. *Hormone Research* 2001;55:172-8. 1,122
 50. Treszl A, Kocsis I, Szathmári M, Schuler Á, Tulassay T, Vásárhelyi B: Genetic variants of the tumor necrosis factor-alpha promoter gene do not influence the development of necrotizing enterocolitis *Acta Paediatrica* 2001;90:1182-1185. 1,582
 51. Nobilis A, Kocsis I, Tóth-Hejn P, Treszl A, Schuler A, Tulassay T, Vásárhelyi B: Variance of ACE and AT1 receptor gene do not influence the risk of neonatal acute renal failure, *Pediatric Nephrology*, 2001;16:1063-1066 1,391
 52. Szabó M, Vásárhelyi B, Balla G, Szabó T, Machay T, Tulassay T: Acute postnatal increase of extracellular antioxidant defence of the neonates: the role of iron metabolism *Acta Paed* 2001;90:1167-1170. 1,582

53. Kocsis I, Vásárhelyi B, Héninger E, Szabó A, Reusz GS, Tulassay T: Abundance and activity of the plasma membrane Ca^{2+} -ATPase in hypercalciuric children. *Ped.Nephrol.* 2001; 16:739-741 1,391
54. Kocsis I, Vásárhelyi B, Héninger E, Vér Á, Tulassay T: Expression and activity of the Ca^{2+} -ATPase enzyme in human neonatal erythrocytes. *Biol Neonate* 2001, 80:3:215-218 1,072
55. Vásárhelyi B, Dobos M, Bodánszky H, Szőnyi L, Tulassay T, Arató A: Decreased $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ pump activity in the erythrocytes of children with treated coeliac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2001; 32: 229-231. 2,077
56. Miltényi G, Tory K, Stubnya G, Tóth-Heyn P, Vásárhelyi B, Sallay P, Szabó A, Tulassay T, Dobos M, Reusz G. Monitoring cardiovascular changes during hemodialysis in children. *Pediatric Nephrology*, 2001;16:19-24. 1,391
- 2000**
57. Szathmári M, Vásárhelyi B, Szabó M, Szabó A, Reusz GS, Tulassay T. Higher osteocalcin levels and cross-links excretion in young men born with low birth weight *Calcified Tissue International* 2000; 67: 429-433. 2,189
58. Vásárhelyi B, Tulassay T, Vér Á, Dobos M, Kocsis I, Seri I. Developmental changes in erythrocyte $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPase subunit abundance and enzyme activity in neonates. *Arch Dis Child* 2000; 83:F135-8. 1,866
59. Vásárhelyi B, Dobos M, Reusz GS, Szabó A, Tulassay T: Normal kidney function and elevated natriuresis in young men born with low birth weight. *Pediatric Nephrology*, 2000; 15: 96-100 1,370
60. Kocsis I, Vásárhelyi B, Tulassay Zs, Szabó T, Vér Á, Tulassay T. Determination of $\text{H}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPase Activity in Human Gastric Biopsy Specimens *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2000; 8:743-745. 1,744
- 1999**
61. Tulassay T, Dobos M, Luczay A, Stubnya G, Reusz GS, Vásárhelyi B, Sallay P, Szabó A: Sodium-lithium countertransport in children with nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 1999, 13, 510-3. 1,159
- 1998**
62. Vásárhelyi B, Vér Á, Szabó T, Tulassay T: Functional and structural properties of $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPase enzyme in neonatal erythrocytes. *European Journal of Clinical Investigation*, 1998, 28, 543-545 1,907
63. Vásárhelyi B, Dobos M, Temesvári P, Ábrahám Cs, Pintér S, Tulassay T: Postasphyxial reoxygenation reduces the activity of $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPase in the erythrocytes of newborn piglets. *Biol. Neonate*, 1998, 74, 445-50 0,784
64. Reusz GS, Dobos M, Vásárhelyi B, Sallay P, Horváth Cs, Szabó A, Byrd DJ, Thole HH, Tulassay T: Sodium transport and bone mineral density in hypercalciuria with thiazide treatment. *Pediatric. Nephrology.*, 1998, 12, 30-34 1,158
- 1997**
65. Luczay A, Vásárhelyi B, Dobos M, Holics K, Ujhelyi R, Tulassay T: Altered erythrocyte sodium-lithium countertransport and $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPase activity in cystic fibrosis. *Acta Paediatrica*, 1997 86, 245-247. 0,810
- 1996**
66. Vásárhelyi B, Sallay P, Balog E, Reusz Gy, Tulassay T: Altered $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPase activity in uraemic adolescents. *Acta Paediatrica*. 1996 85, 919-922. 0,754

Kumulatív impakt faktor 118,096

Levelek, kommentárok

Saját adatokat tartalmazó levelek:

	Impact factor
	:
67. Balogh A, Treszl A, Vannay A, <u>Vásárhelyi B</u> . A prevalent functional polymorphism of insulin-like growth factor system is not associated with perinatal complications in preterm infants. <i>Pediatrics</i> . 2006; 117:591-2	4,272
68. Bokodi G, Derzbach L, <u>Vásárhelyi B</u> : Deletion allele of angiotensin-converting enzyme <i>J Pediatrics</i> , 2006;149:579.	3,837
69. Treszl A, Németh K, Kocsis I, <u>Vásárhelyi B</u> , Fekete Gy, Tulassay T, Szathmári M: The prevalence deltaF-508 in primary osteoporotic patients <i>European Respiratory Journal</i> . 2005; 26:362-363.	3,947
70. Györfly B, Kocsis I, <u>Vásárhelyi B</u> : Missed calculations and new conclusions: re-calculation of genotype distribution data published in <i>J Invest Dermatol</i> , 1998-2003. <i>Journal of Investigative Dermatology</i> , 2004;122:644-666.	4,238
71. Györfly B, Kocsis I, <u>Vásárhelyi B</u> : Biallelic genotype distributions in papers published in <i>Gut</i> between 1998 and 2003: altered conclusions after re-calculating the Hardy-Weinberg equilibrium. <i>Gut</i> , 2004;53:614-616.	6,601
72. Kocsis I, Györfly B, Németh É, <u>Vásárhelyi B</u> : Examination of Hardy-Weinberg equilibrium in papers of <i>Kidney International</i> : an underused tool, <i>Kidney International</i> , 2004; 65:1956-1958.	4,790
73. Bardóczy Zs, Györfly B, Kocsis I, <u>Vásárhelyi B</u> : Re-calculated Hardy-Weinberg values in papers published in <i>Atherosclerosis</i> between 1995 and 2000; <i>Atherosclerosis</i> , 2004; 173:141-143.	3,796
74. Németh É, <u>Vásárhelyi B</u> , Györfly B, Kocsis I: Prevalence of unreported skewness of genotype distributions in papers published in <i>Critical Care Medicine</i> between 1999 and 2003, <i>Critical Care Medicine</i> , 2004;32: 1431-1433.	4,182
75. Héninger E, Treszl A, Kocsis I, Tulassay T, Dérfalvi B, <u>Vásárhelyi B</u> : Genetic variants of interleukin-18 promoter region (-607) influence the course of necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. <i>European Journal of Pediatrics</i> , 2002; 161:410-411.	1,223
76. Krikovszky D, <u>Vásárhelyi B</u> , Treszl A, Körner A, Tordai A, Tulassay T, Madácsy L: Genetic polymorphism of interleukin-1beta is associated with risk of type 1 diabetes mellitus in children, <i>European Journal of Pediatrics</i> , 2002;161:507-508.	1,223
77. <u>Vásárhelyi B</u> ., Kocsis I., Schuler Á., Nobilis A., Tulassay T: G protein in very low birth weight infants <i>Lancet</i> 2000; 356: 254	10,232
78. Szathmári M, <u>Vásárhelyi B</u> , Reusz GS, Tulassay T: Adult cardiovascular risk factors in premature babies <i>Lancet</i> 2000; 356: 939-940.	10,232

79. Vásárhelyi B., Nobilis A, Machay T, Tulassay T: Inhibitory effect of dopamine treatment on Na^+/K^+ -ATPase activity in preterm infants European Journal of Pediatrics. 1997 156, 79-80. 0,926
80. Vásárhelyi B., Szabó T, Vér Á, Tulassay T: Application of the measurement of Na^+/K^+ -ATPase activity on a Hitachi 704 automatic analyzer. Clinical Chemistry, 1997 43, 1986-7 3,703
81. Vásárhelyi B., Szőnyi L, Tulassay T: Altered Na^+/K^+ -ATPase activity in chronic liver disease. Metabolism, 1996 45, 667. 1,788

Új adatot tartalmazó levelek kumulatív impakt faktora 64,99

Kommentár

82. Miklos S, Vásárhelyi B.: Iron supplementation during EPO treatment. Pediatrics. 2001;108:1390 3,708

Levelek kumulatív impakt faktora 68,698

Hazai közlemények

83. Vásárhelyi B., Blázovics A., Fehér J.: Az A vitamin analóg és származék család jelentősége a sejtműködés szabályozásában. Orvosi Hetilap, 1993 134: 845-8.
84. Horváth É.M., Blázovics A., Kemény T., Weinbrenner Zs., Vásárhelyi B., Fehér J.: E vitamin kezelés hatásának tanulmányozása kísérletesen létrehozott hyperlipidaemiában. Orvosi Hetilap, 1993 134: 1757-60.
85. Fehér J., Vásárhelyi B., Blázovics A.: A halotán hepatitisz. Orvosi Hetilap, 1993 134: 1795-8.
86. Vásárhelyi B., Blázovics B., Fehér J.: A pentaklórfenol általános orvosi jelentősége. Orvosi Hetilap, 1993 134: 2649-52.
87. Vásárhelyi B., Sallay P., Balog E., Tulassay T.: A vörösvérsejtmembrán fizikokémiai és funkcionális tulajdonságai serdülőkorú urémiás betegekben. Gyermekgyógyászat, 1995 4; 320-326.
88. Vásárhelyi B., Reusz Gy., Sallay P., Tulassay T.: A dialízis hatása a Na^+/K^+ -ATPase aktivitásra uraemiás gyermekekben. Orvosi Hetilap, 1996, 137: 7-10.
89. Vásárhelyi B., Nobilis A, Machay T, Tulassay T: A dopaminkezelés csökkenti a Na^+/K^+ ATPase aktivitást koraszülöttekben. Gyermekgyógyászat, 1996, 47:505-509.
90. Madarasi A., Holics K., Újhelyi R., Vásárhelyi B., Bíró L, Czinner A: Mucoviscidosisos gyermekek tápláltsági állapotának felmérése multifrekvenciás impedancia és a táplálkozással összefüggő biomarkerek mérésével. Pediáter, 1998, 7: 238-245.
91. Vásárhelyi B., Szabó T, Vér Á, Nobilis A, Tulassay T Automatizált módszer kifejlesztése Na/K -ATPáz mérésére humán vörösvérsejtekben: az enzimaktivitás egészséges referenciaértékeinek meghatározása különböző korcsoportokban. Klinikai és Kísérletes Laboratóriumi Medicina, 1999, 2: 64-69.
92. Vásárhelyi B., Dobos M, Vér Á, Nobilis A, Kocsis I, Szabó T, Seri I, Tulassay T: A Na/K -pumpa működése kora- és újszülöttkorban. Gyermekgyógyászat, 1999, 6: 578-584.
93. Vásárhelyi B., Tulassay T, Prónai L, Kocsis I, Ónody T, Szabó T, Zágoni T, Tulassay Zs: Humán gyomornyálkahártya savtermelő képességének közvetlen

- meghatározása gasztroszkópia során vett biopsziás mintákból. Orvosi Hetilap, 2000, 141: 441-445.
94. Vásárhelyi B: Clopidogrel: a hatékony aggregációgátlás. Medicus Anonymus, 2000;7(5): 13-14.
 95. Kocsis I, Vásárhelyi B, Szabó T, Vér Á, Tulassay Zs, Tulassay T: H/K-ATPáz enzim aktivitásának meghatározása gyomorbiopsziás mintákból az enzimaktivitás K-mal való indukálhatóságának alapján. Klin Kísérl Lab Med 2000, 27:192-202.
 96. Vásárhelyi B, Dobos M, Reusz Gy, Szabó A, Tulassay T: Befolyásolja-e az alacsony születési súly fiatal felnőttkorban a veseműködést és a vérnyomást? Gyermekgyógyászat, 2000, 51:555-562
 97. Treszl A, Vásárhelyi B, Tulassay Zs, Szathmári M: A tumor nekrosis faktor-alfa élettana és szerepe egyes betegségek patogenezisében Magyar Belorvosi Archivum 2000, 53: 397-403
 98. Szathmári M, Vásárhelyi B, Tulassay T: Az akut fiziológiás hyperinsulinaemia hatása a dehidroepiandrosteron- és a dehidroepiandrosteron-szulfát szintre kis és normális születési súlyú fiatal felnőttekben. Magyar Belorvosi Archivum 2001, 54: 18-24
 99. Süveges Zs, Tory K, Vásárhelyi B, Reusz Gy: A nitrogén-monoxid szintázok genetikája szív- és érrendszeri, valamint vesebetegségekkel összefüggésben. Hypertonia és Nephrologia 2001; 5: 81-85.
 100. Luczay A, Vásárhelyi B, Madácsy L, Pánczél P, Tulassay T: A szigetsejt-citoplazma és glutaminsav-decarboxiláz elleni antitestek kis súllyal született fiatal felnőttekben. Orv Hetil. 2001;142:2145-2147.
 101. Újhelyi R, Treszl A, Vásárhelyi B, Holics K, Tóth M, Arató A, Tulassay T, Tulassay Zs, Szathmári M: Cystas fibrosisban szenvedő betegek csontsűrűsége és anyagcseréje - követéses vizsgálat. Magyar Belorvosi Archivum, 2001;54:210-6.
 102. Kocsis I, Vásárhelyi B, Héninger E, Szabó A, Tulassay T, Reusz Gy: A vörösvértest membrántranszporterek vizsgálata hypercalciuriában szenvedő gyermekeknél. Hypertonia és Nephrologia, 2002;6:50-54.
 103. Szathmári M, Vásárhelyi B, Tulassay T: A kis születési súly és egyes felnőttkori betegségek kapcsolata. A hipotézis, az azt alátámasztó adatok és kétségek. Orv Hetil 2002;143:2221-2228.
 104. Szőnyi L, Dobos M., Vásárhelyi B, Héninger E, Váczi Zs: Alfa1-antitripszin fenotípusok gyakorisága Magyarországon. Orv Hetil 2003;144:705-708.
 105. Szőnyi L, Héninger E, Dobos M, Balogh L, Vásárhelyi B, Dezsőfi A, Arató A, Szabó A, Tulassay T: Az alfa-1-antitripszin variánsai gyermekkori májbetegségekben Gyermekgyógyászat, 2003;54:249-257.
 106. Erdei G, Tóth P, Vásárhelyi B: Új klinikai entitás a perinatológiában: a magzati gyulladásos válaszüreakció szindróma. Orvosi Hetilap, 2003;144:1515-1519.
 107. Tóth P, Erdei G, Vásárhelyi B: Az in utero magas ösztrogénszint megszűnésének lehetséges hatásai koraszülöttekben. Orvosi Hetilap, 2003;144:1719-1724.
 108. Györfly B, Szabó A, Vásárhelyi B: A D-vitamin-receptor genetikai polymorphismusok populációgenetikai összefüggései klinikai kórállapotokkal. Orvosi Hetilap, 2003;144:2011-2015.
 109. Balogh Á, Derzbach L, Vásárhelyi B: Hepcidin, a vasháztartás negatív irányú regulátora. Orvosi Hetilap, 2004;145:1549-1552.
 110. Szőnyi L, Héninger E, Dobos M, Holics K, Újhelyi R, Bodánszky H, Dezsőfi A, Veres G, Vásárhelyi B, Arató A: Az alfa-1-antitripszin fenotípusa nem befolyásolja a mucoviscidosisban kialakuló májbetegséget. Gyermekgyógyászat, 2004;55:578-582.

111. Derzbach L, Balogh Á, Vásárhelyi B: Foszfodieszteráz-gátlás, potenciális eszköz koraszülöttek gyulladásos szövődményeinek megelőzésére és kezelésére Gyermekgyógyászat, 2004;55: 641-649.
112. Kocsis I, Kis É, Szabó A, Vásárhelyi B, Machay T, Szabó M. Koraszülöttek osteopeniája Orv Hetil. 2005;146:2491-2497.
113. Kocsis I, Treszl A, Vásárhelyi B. Az eritropoietin szerepe az idegrendszer fejlődésében, működésében és a neuroprotekcióban. Orv Hetil. 2005;146:2527-2532.
114. Vásárhelyi Barna. Betűcsere. Élet és Tudomány, 2005;51-52:1640-1642
115. Mácsai E, Fodor B, Fekete A, Treszl A, Vásárhelyi B, Madácsy L: Befolyásolja-e a diabetes hemodializált betegekben a citokinszinteket? Hypertonia és Nephrologia 2007; 11:21 – 27.
116. Mácsai E, Széll J, Ladányi E, Treszl A, Vásárhelyi B, Madácsy L: Kardiális biomarkereket meghatározó tényezők vizsgálata diabéteszes és nem diabéteszes hemodializált betegekben Orv Hetil 2007; 148; 11.: 483–488.
117. Mácsai E, Vásárhelyi B, Madácsy L: Újabb adatok a diabéteszes nephropathia molekuláris patogenezisének kutatásában. Magy Belorv Arch 2005; 58: 90-97
118. Mácsai E, Mizsik T, Fodor B, Treszl A, Vásárhelyi B: Kardiális biomarkerek szintjét befolyásoló tényezők – a fluvastatin hatása. Magy Belorv Arch 2007; 62: 149-53
119. Vásárhelyi B, Bencsik P, Szmolenszky Á, Molnár MJ, Györffy B, Kosztolányi Gy, Tulassay T, Falus A: Világháló alapú biobankregiszterek Magyarországon. Orvosi Hetilap, 2007; 148: 935–939.